Niekonwencjonalne możliwości ochrony jabłoni i grusz przed zarazą ogniową (*Erwinia amylovora*)

PIOTR SOBICZEWSKI¹, GRZEGORZ KRUPIŃSKI²,
JOANNA PUŁAWSKA¹

¹ Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa, ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice

² Katedra Ochrony Roślin, Akademia Rolnicza, Al. 29-Listopada 54, 31-425 Kraków

Sobiczewski P., Krupiński G., Puławska J. (¹ Research Institute of Pomology and Floriculture, Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice, Poland; ² Cracow Agricultural University, Department of Plant Protection, 29-Listopada 54, 31-425 Kraków, Poland). Non-conventional possibilities of protection of apple and pear against fire blight (*Erwinia amylovora*).

(Otrzymano dn. 15 czerwca 2002)

Summary

Standard program of plant protection against fire blight consists of use of management practices and chemical control method. Recently a new, non-conventional possibilities based on application of biocontrol agents (two biopreparations have been already introduced into practice: Bliteban A506 (*Pseudomonas fluorescens*) and BlossomBless (*Pantoea agglomerans*), plant extracts active against *Erwinia amylovora* (AkseBio containing extracts from *Thymra spicata* and Biomit Plussz with extracts from various plant species and microelements) and resistance inducers (Regalis, Bion and plant extracts) are of great interest. Also plant transformation with resistance genes such as: *hrpN* (harpin), *dpo* (EPS depolymerase) and lytic protein genes (attacin E, cecropin SB-37, T4 lysozyme) is a promising perspective.

Key words: fire blight, *Erwinia amylovora*, biological control agents, plant extracts, resistance induction, transformation, apple, pear.

WSTĘP

Ochrona roślin przed zarazą ogniową, jedną z najważniejszych i najbardziej szkodliwych chorób jabłoni i gruszy, a także innych gatunków, głównie z rodzajów *Cotoneaster*, *Crataegus*, *Cydonia*, *Pyracantha* i *Sorbus*, opiera się na stosowaniu różnych metod mających na celu ograniczenie jej rozprzestrzeniania, obniżenie podatności na chorobę oraz zapobieganie zakażeniu roślin (S o b i c z e w s k i i in., 1997). Obecnie brak jest środka, który z jednej strony całkowicie wyniszczałby chorobę, a z drugiej - skutecznie zapobiegał infekcji i leczył zakażone rośliny. Asortyment preparatów chemicznych polecanych do walki z zarazą ogniową jest niezwykle skromny i prawie wyłącznie obejmuje związki miedzi i antybiotyki. Ze względu na liczne ograniczenia stosowania tych preparatów duże zainteresowanie – poza pracami nad opracowaniem nowych, efektywnych bakteriocydów - wzbudzają alternatywne oraz niekonwencjonalne możliwości ochrony oparte m.in. na wykorzystaniu czynników biologicznych, aktywnych biologicznie ekstraktów z roślin, indukowaniu odporności roślin na chorobę czy transformacja roślin.

Biologiczna ochrona jabłoni i gruszy przed zarazą ogniową

Pierwsze badania nad wykorzystaniem czynników biologicznych przeciwko zarazie ogniowej, podjęte około 70 lat temu w Stanach Zjednoczonych, dotyczyły antagonistycznej aktywności niektórych bakterii wobec *Erwinia amylovora* w warunkach in vitro oraz – na niewielką skalę – oceny efektywności ich działania na siewkach jabłoni i gruszy w warunkach szklarniowych (van der Z w e t i K e i l, 1979). Obecnie największe zainteresowanie, zarówno z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia, wzbudzają dwa gatunki bakterii: *Pantoea agglomerans* (*Erwinia herbicola*) i *Pseudomonas fluorescens*. Pierwszy z wymienionych jest powszechnie występującym epifitem i często towarzyszy uszkodzeniom roślin powodowanym przez zarazę ogniową. Mechanizm działania przedstawicieli tego gatunku nie został jeszcze jednoznacznie wyjaśniony (W o d z i n s k i i in., 1990; W o d z i n s k i i in., 1994, W o d z i n s k i i P a u l i n, 1994; J o h n s o n i S t o c k w e l l, 2000). Uważa się, że w dużej mierze jest on związany z konkretnym szczepem, który może oddziaływać na sprawcę zarazy ogniowej dzięki wytwarzaniu bakteriotoksyny herbikolacyna i/lub współzawodnictwu o pokarm i miejsce czy indukowaniu w traktowanych roślinach biosyntezy substancji podobnych do fitoaleksyn (B e e r, 1981, W i l s o n i in, 1990; V a n n e s t e, 1996). Istnieje wiele przykładów wskazujących na zadowalającą ochronę jabłoni, gruszy, głogu, irgi i ognika przez *P. agglomerans* (B e e r i in., 1984 a). Najczęściej stosowano opryskiwania roślin w okresie kwitnienia wodną zawiesiną tej bakterii, a niekiedy wprowadzano ją do pni czy pędów chronionych roślin (B e e r i in., 1984 b). Skuteczność działania bakterii porównywano do zabiegów preparatami na bazie streptomycyny (V a n n e s t e, 1995; S o b i c z e w s k i in. 1997). Wykazano, że efekt ochronny *P. agglomerans* zależał od wielkości potencjału inokulacyjnego *E. amylovora*, na co duży wpływ miały warunki pogodowe (V a n n e s t e i Y u, 1990). W Nowej Zelandii stwierdzono, że *P. agglomerans* nie dominowała

wśród populacji innych gatunków bakterii zasiedlających kwiaty jabłoni i gruszy, ale w okresie opadania płatków kwiatowych liczebność tej bakterii zwiększała się gwałtownie, nawet 100-krotnie. W niektórych sadach dominowały bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, przy czym około 30% z nich posiadało zdolność wytwarzania substancji antybiotycznych w stosunku do *E. amylovora* (K e a r n s i H a l e, 1995). Na bazie zliofilizowanych bakterii szczepu P10C *P. agglomerans*, opornych na streptomycynę, rifampicynę i kilka bakteriofagów, opracowano niedawno preparat BlossomBless, który sadownicy nowozelandzcy stosują już w okresie kwitnienia jabłoni i grusz, także w sytuacjach, kiedy istnieje konieczność wykonania dodatkowych zabiegów preparatem streptomycynowym (V a n n e s t e i in., 2001).

W Kalifornii prowadzi się intensywne prace nad szczepem A506 *Pseudomonas fluorescens*, którego antagonistyczne zdolności polegają głównie na szybszym niż *E. amylovora* wykorzystaniu dostępnych składników pokarmowych, a także szybszej kolonizacji możliwych miejsc infekcji (W i l s o n i L i n d o w 1993). Niezwykle ważną cechą tego szczepu jest zdolność zasiedlania nowo rozwijających się kwiatów oraz zmniejszania szkód powodowanych przez przymrozki. Pozwala to przypuszczać, że w razie zagrożenia kwiatów przez zarazę ogniową wystarczy jedno opryskiwanie zawiesiną bakterii tego szczepu. Na bazie szczepu A506 firma Plant Health Technologies w Idaho produkuje preparat o nazwie BliteBan A506 (N u c l o i in., 1998). Ostatnio wykazano, że dodanie związku chelatowego do tego preparatu, stanowiącego źródło żelaza wyłącznie dla bakterii antagonistycznych, podwyższało efektywność jego działania zarówno poprzez polepszenie warunków do rozmnażania się tych bakterii na traktowanych roślinach, jak i stymulacji biosyntezy antybiotyku aktywnego wobec *E. amylovora* (S t o c k w e l l, J o h n s o n i L o p e r, 2001).

W celu polepszenia efektywności ochronnego działania bakterii prowadzono także badania nad jednoczesnym wykorzystaniem szczepu A506 oraz szczepu C9-1S *P. agglomerans*. Ze względu na różny mechanizm antagonizmu obu szczepów wobec *E. amylovora*, spodziewano się uzyskać efekt synergistyczny. Okazało się jednak, że to połączenie nie zwiększyło ich skuteczności w porównaniu do zastosowania każdej z nich oddzielnie (N u c l o i in., 1998).

Należy jeszcze wspomnieć o preparatach Serenade i BIOPRO na bazie bakterii *Bacillus subtilis*, nad którymi prowadzone są badania w Niemczech, Włoszech i w Stanach Zjednoczonych. Z kolei badania przeprowadzone z epifitycznymi bakteriami wyizolowanymi z kwiatów i liści jabłoni, grusz i głogów w rejonie Krakowa wykazały, że spośród kilkuset wybranych izolatów 25% posiadało zdolność ochrony zawiązków owocowych gruszy przed zarazą ogniową. Znalazły się wśród nich także izolaty zaklasyfikowane do rodzaju *Xanthomonas* (K r u p i ń s k i, 2001). Pewne zainteresowanie wzbudzają również produkty metabolizmu bakterii z kultur *Serratia plymuntica*. Serracine P – bakteriocyna, którą wyizolowano w Belgii, okazała się podobnie skuteczna w ochronie gruszy przed zarazą ogniową jak streptomycyna (P i e r r a r d i in., 2001).

Głównym problemem związanym z wykorzystaniem bakterii w ochronie roślin przed zarazą ogniową są ograniczenia natury ekologicznej. Prawie wszystkie badane bakterie należą do grupy gramujemnych, nie tworzą form przetrwalnych, a przez to są wrażliwe na zmieniające się czynniki środowiska. Podjęto już próby ograniczenia niekorzystnego oddziaływania otoczenia na te bakterie przez dodawanie do ich wodnej zawiesiny substancji pokarmowych poprawiających przeżywanie na powierzchni chronionej, a jednocześnie nie wpływających stymulująco na *E. amylovora* (V a n d e r Z w e t, 1993).

Aktywność ekstraktów roślinnych wobec *Erwinia amylovora*

Rośliny stanowią bogate źródło substancji odznaczających się biologiczną aktywnością. Spośród występujących na kuli ziemskiej około 450 000 gatunków roślin, tylko 10-15% zostało mniej lub bardziej dokładnie zbadanych pod względem chemicznym i farmakologicznym (O ż a r o w s k i i J a r o n i e w s k i, 1987). Stwierdzono, że bardzo wiele gatunków, wydziela do otaczającego środowiska związki o różnym składzie chemicznym, które oddziałują na organizmy żywe (W a s i n a, 1987). Niektóre z nich działają hamująco lub zabójczo na patogeny roślin, w tym na *Erwinia amylovora*. W badaniach nad bakteriostatyczną i bakteriobójczą aktywnością preparatów czosnkowych przeciwko 6 gatunkom bakterii fitopatogenicznych z rodzajów: *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* i *Xanthomonas* stwierdzono, że przedstawiciele 5 z nich okazali się wrażliwi na działanie allicyny, fitoncydu wytwarzanego przez czosnek. Bakterię *Erwinia amylovora* zaliczono do grupy najbardziej wrażliwych (J a r o s z, L i p a, 1988).

Prace nad możliwościami wykorzystania ekstraktów roślinnych przeciwko zarazie ogniowej zapoczątkowano w Niemczech (M o s c h i K l i n g a u f, 1989). Pierwsze badania dotyczyły poznania aktywności ekstraktów w stosunku do *E. amylovora* w warunkach in vitro. Stwierdzono, że spośród etanolowych ekstraktów uzyskanych z ponad 100 gatunków roślin do najbardziej aktywnych należały ekstrakty z sumaka octowca (*Rhus typhina*), orzecha włoskiego (*Juglans regia*) i berberysu zwyczajnego (*Berberis vulgaris*) (M o s c h i i n., 1990). Ich działanie oceniono na poziomie zbliżonym do streptomycyny. Nieco gorsze, ale również wyróżniające się, były ekstrakty z ruty (*Ruta graveolens*) i topoli drżącej (*Populus tremula*).

Traktowanie roślin irgi (*Cotoneaster salicifolius* var. *floccosus*) ekstraktami z mahonii pospolitej (*Mahonia aquifolium*), berberysu zwyczajnego (*Berberis vulgaris*), sumaka octowca (*Rhus typhina*) i czosnku (*Allium sativum*) wykazało, że chociaż ich skuteczność w zapobieganiu porażenia kwiatów przez *E. amylovora* wynosiła ponad 53%, to jednak były one mniej efektywne niż streptomycyna czy tlenochlorek miedzi (M o s c h i Z e l l e r, 1989). W innych badaniach przeprowadzonych na siewkach jabłoni w warunkach szklarniowych, traktowanie ekstraktami z bluszczu pospolitego (*Hedera helix*), wierzby białej (*Salix alba*) i przestępu dwupiennego (*Bryonia dioica*) spowodowało, że zaraza ogniowa wystąpiła w nasileniu o 80% niższym niż w kontroli. Z kolei w doświadczeniach polowych na jabłoniach odm. James Grieve i Golden Delicious oraz na irdze stwierdzono, że

zastosowanie wymienionych ekstraktów było efektywne w 43-68%. Wyniki te były porównywalne ze skutecznością streptomycyny, a w niektórych przypadkach nawet lepsze (M o s c h i Z e l l e r, 1999).

Bakteriostatyczną aktywność przeciwko *E. amylovora* wykazał także ekstrakt z merystemu wierzchołkowego gruszy odm. Bonkreta Williamsa (Z a c c h e o, 1990), a bakteriobójczą – wyciągi z oregano, cytrusów i geranium (S c o r t i c h i n i i R o s s, 1993).

Również nasze badania wykazały występowanie w roślinach związków działających antybakteryjnie wobec *E. amylovora* (K r u p i ń s k i i S o b i c z e w s k i, 2001). Spośród przebadanych wodnych i alkoholowych ekstraktów uzyskanych z 30 gatunków roślin zielnych, drzew i krzewów, u 23 gatunków wykazano obecność takich związków, a u 13 z nich wykryto je po raz pierwszy. Największą strefę zahamowania wzrostu sprawcy zarazy ogniowej powodowały m.in. ekstrakty z aloesu drzewiastego (*Aloe arborescens*), szalwi lekarskiej (*Salvia officinalis*) i cząbrzaka ogrodowego (*Satureja hortensis*). W prawie wszystkich przypadkach etanol okazał się lepszym rozpuszczalnikiem roślinnych substancji działających przeciwko *E. amylovora* niż woda.

Ostatnio w Niemczech i Turcji pracuje się nad preparatem AkseBio zawierającym ekstrakt z *Thymra spicata*, który wykazał zadowalającą skuteczność w ochronie jabłoni w warunkach polowych, a na Węgrzech nad preparatem Biomit Plussz zawierającym ekstrakty z różnych gatunków roślin i mikroelementy. W kombinacji z olejem parafinowym i związkami miedzi preparat ten istotnie ograniczał nasilenie zarazy ogniowej w sadach gruszkowych (B u b a n i in. 2001).

Indukowanie odporności roślin na zarazę ogniową

Rośliny bronią się przed zakażeniem przez organizmy chorobotwórcze dzięki swoim cechom strukturalnym tworząc bariery fizyczne ograniczające ich wnikanie i rozprzestrzenianie się w tkankach, a także produkując substancje toksyczne dla organizmów chorobotwórczych (A g r i o s, 1997). W indukowaniu mechanizmów obronnych roślin można wyróżnić następujące etapy: rozpoznanie patogena przez roślinę i przekazanie sygnału alarmowego do jądra komórkowego, wytwarzanie strukturalnych mechanizmów odporności oraz indukcja reakcji nadwrażliwości i w końcu indukcja mechanizmów biochemicznych (A g r i o s, 1997). W zaatakowanej roślinie-gospodarzu mogą tworzyć się m.in. tzw. białka odpornościowe (ang. pathogenesis related proteins = PR proteins), wykazujące właściwości toksyczne w stosunku do wielu grzybów i bakterii porażających rośliny (R y a l s i in. 1994). Innymi substancjami, które mogą się tworzyć i gromadzić w roślinach jako reakcja na porażenie przez patogeny lub działanie czynników stresowych takich jak mróz czy promieniowanie ultrafioletowe, są fitoaleksyny (J a n k i e w i c z i S o b i c z e w s k i, 1997).

Wśród nowych możliwości walki z zarazą ogniową należy wymienić sztuczne wywoływanie odporności roślin na tę chorobę. Prowadzone są intensywne prace z trzema grupami związków mającymi zdolność wywoływania zmian w metabolizmie roślin. Reprezentantem pierwszej grupy jest niedawno zarejestrowany w Polsce

preparat Regalis, którego substancją czynną jest proheksadion wapnia. Jest to regulator wzrostu powodujący zahamowanie wzrostu pędów i szybsze powstawanie spoczynkowych pąków wierzchołkowych (B a s a k i R a d e m a c h e r, 1998; E v a n s i in., 1999). Zmiany, które wywołuje Regalis w traktowanych roślinach zwiększają także ich odporność na zarazę ogniową (F e r n a n d o i J o n e s, 1999; Y o d e r i in., 1999). Jabłonie traktowane tym preparatem okazały się mniej podatne na parcha jabłoni (*Venturia inaequalis*), a winorośl na szarą pleśń (*Botrytis cinerea*) (R a d e m a c h e r, 2000).

Działanie proheksadionu wapnia polega na hamowaniu biosyntezy giberelin (GA) odpowiedzialnych za wydłużeniowy wzrost pędów (E v a n s i in., 1999). Jego struktura jest podobna do kwasu 2-oxoglutarowego stanowiącego substrat dla dioksygenaz związanych z końcowym etapem biosyntezy GA. Z kolei dioksygenazy są włączone w metabolizm flawonoidów (R a d e m a c h e r, 2000). W traktowanych proheksadionem młodych pędach jabłoni stwierdzono akumulację dużych ilości luteoliflwanu, który normalnie nie występuje w pędach. Uważa się, że ma to związek z odpornością na infekcję przez *Erwinia amylovora* (Y o d e r i in., 1999; R a d e m a c h e r, 2000).

Innym preparatem o zdolności indukowania odporności roślin na zakażenie przez *E. amylovora* jest Bion, którego substancją czynną jest acibenzolar S-metylu. Jego działanie jest jednak inne niż proheksadionu i wiąże się z biosyntezą wspomnianych już białek odpornościowych i ich akumulacją w przestrzeniach międzykomórkowych traktowanych roślin (K e s s m a n n i in., 1996). Są to enzymy o zdolnościach degradacji ściany komórkowej bakterii. Indukowanie odporności pod wpływem Bionu jest jakby naśladowaniem indukcji naturalnej odporności wskutek infekcji przez niektóre patogeny, a wiążącej się m.in. ze wzrostem poziomu kwasu salicylowego odgrywającym ważną rolę m.in. w indukowaniu biosyntezy białek odpornościowych. Podobnie jak w przypadku innych wywoływalczy odporności roślin, również przy stosowaniu Bionu najważniejsze jest to, aby roślina uaktywniła się odpowiednio wcześniej i aby zdążyła wytworzyć odporność w okresie największej podatności na infekcję przez sprawcę zarazy ogniowej. Stwierdzono, że u jabłoni najlepszym okresem indukcji odporności było zastosowanie tego preparatu na 4 dni przed spodziewaną infekcją, a u gruszy - na 2 dni (T h o m s o n i in., 1999 a).

Bion stosowano także w mieszaninie ze streptomycyną i wykazano, że to połączenie polepszało efekt ochrony roślin przed zarzą ognia. Podobnie jak proheksadion, Bion nie działa bezpośrednio na bakterie, natomiast przy względnie małej ich koncentracji w zawieszynie użytej do inokulacji zawiązków owocowych gruszy, hamował rozwój zarazy ogniowej (Z e l l e r i Z e l l e r, 1999, S o b i c z e w s k i i in., 2001). Sugeruje to możliwość występowania jeszcze innego niż indukowanie odporności, mechanizmu działania Bionu. W szczegółowych badaniach, m.in. nad wpływem tego preparatu na rozmnażanie się bakterii w porażonych liściach, wykazano ograniczenie ich rozmnażania o 60% (Z e l l e r i Z e l l e r, 1999). Obniżał on także – o 70% - porażenie przez *E. amylovora* podatkki M26. Istnieje jednak opinia, że Bion nie pomoże roślinom silnie porażonym, a także gdy występuje duże nasilenie choroby w sadzie lub rejonie. Spełni natomiast swoją rolę przy małym i średnim zagrożeniu zarzą ognia.

Nasze badania nad indukowaniem odporności jabłoni wykazały, że zarówno Regalis, jak i Bion zastosowane zapobiegawczo znacznie ograniczały rozwój choroby na młodych pędach (S o b i c z e w s k i i n., 2001). W jednym z doświadczeń na odmianie Gloster stwierdzono podobne zmniejszenie nasilenia zarazy przez oba preparaty (od 55 do 60%), kiedy stosowano je odpowiednio na 7 lub 4 dni przed spodziewaną infekcją. U odmiany Idared przy znacznie większym porażeniu pędów, wystąpiła natomiast wyraźna tendencja silniejszego zahamowania rozwoju choroby przez Regalis niż Bion. Na uwagę zasługuje minimalny rozwój zarazy ogniowej na pędach drzewek odm. Idared traktowanych Regalisem 21 dni przed inokulacją bakteriami *E. amylovora* (ograniczenie choroby o 88-95%). Podobne zmniejszenie nasilenia choroby (o 86%) na jabłoniach tej samej odmiany uzyskano przy dwukrotnym zastosowaniu Regalisu w Stanach Zjednoczonych (M o m o l i i n., 1999). Również badania przeprowadzone we Włoszech na gruszech odm. Abate Fetel wykazały, że preparat ten ograniczał rozwój zarazy ogniowej – zmniejszał liczbę porażonych pędów o 50 – 75% (C o s t a i i n., w druku).

Pewne nadzieje w możliwościach indukowania odporności roślin na zarazę ogniową upatruje się także w ekstraktach otrzymywanych z niektórych roślin (M e n d e i i n., 1994). Badania nad wyjaśnieniem tego zjawiska przeprowadzono na pigwie i irdze (M o s c h i i n., 1993; M o s c h i i n., 1996). Wśród kilku testowanych, najlepiej działały ekstrakty z jemioli (*Viscum album*) i bluszczu pospolitego (*Hedera helix*). Po ich aplikacji na rośliny stwierdzono stymulację metabolizmu fenoli, indukcję enzymatycznej aktywności peroksydazy, oksydazy polifenolowej oraz lizy fenyloalaninoamonowej. Ponadto wystąpiły zmiany w zawartości białek odpornościowych w traktowanych roślinach, np. b-1,3 glukanazy i chitynazy, co stanowi wskaźnik indukcji odporności w tych roślinach na zarazę ogniową (M o s c h i i n. 1996).

W ostatnich latach duże zainteresowanie wzbudzają badania nad mechanizmami patogeniczności *E. amylovora*. Obecnie na świecie działają 3 centra badawcze zajmujące się tym problemem: Instytut Biologii Komórki Maxa Plancka w Niemczech, Instytut Badań Rolniczych w Angers we Francji oraz Uniwersytet Cornella w Stanach Zjednoczonych. W ostatnim z wymienionych ośrodków odkryto po raz pierwszy w świecie, że *E. amylovora* wytwarza harpinę – białko odpowiedzialne za patogeniczność bakterii oraz wywołanie reakcji nadwrażliwości na roślinach nie będących jej gospodarzami (W e i i i n., 1992; K i m i i n. 1999). Dla praktyki ochrony roślin ważne było jednak zsyntetyzowanie harpiny i opracowanie na jej bazie preparatu o nazwie Messenger. Opryskanie roślin różnych gatunków tym preparatem powodowało wywołanie systemicznej odporności nabytej (SAR) na niektóre choroby grzybowe, bakteryjne (w tym na zarazę ogniową) i wirusowe, polepszało wzrost tych roślin oraz indukowało repelencję w stosunku do szkodliwych owadów (P s a l l i d a s, T s i a n t o s, 2000; B e e r, dane niepublikowane).

Transformacja roślin

Znaczne możliwości uzyskania genetycznie odpornych roślin na zarazę ogniową stwarza inżynieria genetyczna. Kilka lat temu stwierdzono, że białka wytwarzane przez poczwarki jedwabnika *Hyalophora cecropia* - cekropina B i atacyna E wykazują toksyczne działanie w stosunku do różnych gatunków bakterii, w tym *E. amylovora* (Norelli i Aldwinckle, 2000). Za pośrednictwem *Agrobacterium tumefaciens* transformowano już gruszę odm. Passe Crassane, jabłoni odm. Royal Gala i Galaxy oraz podkładki jabłoni M26 i M7 wprowadzając geny kodujące syntezę tych białek (Chevreau i in., 1999; Norelli i in., 1999). Jednocześnie stwierdzono, że u transgeniczných klonów wystąpiło znaczne podwyższenie odporności na zarazę ogniową.

Do transformacji roślin wykorzystuje się również geny kodujące lizozym (białko antybakteryjne) bakteriofaga T4. Udało się już uzyskać zmienione w ten sposób linie jabłoni odmiany Pinova (Hank i in. 1999). Prowadzone są także prace nad uzyskaniem „podwójnie” transformowanych jabłoni odm. Galaxy i podkładki M26 genami jedwabnika i bakteriofaga w celu uzyskania efektu synergistycznego (Aldwinckle i in., 1998; Borejsza-Wysocka i in., 1997). Przyszłościowe wydają się badania nad transformacją jabłoni genem *hrpN* kodującym syntezę harpiny, o której wiadomo, że z jednej strony odgrywa zasadniczą rolę w zakażeniu roślin przez *E. amylovora*, z drugiej zaś indukuje mechanizm obronny rośliny na zakażenie. Niektóre ze transformowanych tym genem linii podkładki M26 wykazały istotny wzrost odporności na chorobę (ponad pięciokrotnie mniejsze porażenie pędów) (Borejsza-Wysocka i in. 2001). Innym genem wykorzystywanym do transformacji roślin jest *dpo* – gen pochodzący z bakteriofaga JElh, którego produkt degraduje jeden ze składników bakteryjnej otoczki – egzopolisacharyd amylovoran decydujący o patogeniczności *E. amylovora*. Transformowana tym genem jabłoni odm. Pinova wykazała istotnie podwyższoną odporność na zarazę ogniową (Hank i in., 2001), natomiast transformowana grusza odm. Passe Crassane miała zwiększoną odporność tylko o 15% (Malnoy, Brisset i Chevreau, 2001). Przeprowadzone badania wykazały, że dla efektywnej transformacji roślin istotny jest nie tylko gen, ale także jego promotor, od którego zależy poziom ekspresji wprowadzonego genu. W modelowych doświadczeniach wykazano, że promotor Pgst1 pochodzący z ziemniaka jest aktywowany we wczesnych stadiach infekcji jabłoni przez *E. amylovora*, a do jego aktywacji potrzebne są geny *hrp* (Reyno i in. 2001).

LITERATURA

- Agrios G.N., 1997. Plant Pathology. IV ed. Academic Press. San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto. 635 s.
- Aldwinckle H.S., Ko K., Norelli J.L., Brown S.K., During K., 1998. Enhanced resistance to fire blight of apple lines transgenic for atacyn E and T4 lysozyme genes. W: 7th International Congress of Plant Pathology, vol. 3. ICPP Edinburgh, p. 5.3.17.

- Basak A., Rademacher W., 1998. Growth regulation of pome and stone fruit trees by use prohexadione-Ca. *Acta Hort.* 514: 41-50.
- Beer S.V., 1981. Biological control of fire blight. *Acta Hort.* 117: 123.
- Beer S.V., Rundle J.R., Norelli J.L., 1984. Recent progress in the development of biological control for fire blight – a review. *Acta Hort.* 151: 195-201.
- Borejsza-Wysocka E.E., Norelli J.L., Ko K., Aldwinckle H.S., 1997. Transformation of M26 apple rootstock with lytic proteins for enhanced fire blight resistance. *Phytopathology* 87: S10.
- Borejsza-Wysocka E.E., Norelli J.L., Bauer D.W., Beer S.V., Aldwinckle H.S., 2001. Resistance of *hrpN*-transgenic apple rootstock plants to *Erwinia amylovora*. 9th International Workshop on Fire Blight Book of Abstracts O-25.
- Buban T., Sallai P., Herelendy L., Obsut-Tuskovszky E., 2001. Trials with applying chemical agents other than bactericides to control fire blight in pear orchards. 9th International Workshop on Fire Blight Book of Abstracts P-29.
- Chevreau E., Mourgues F., Reynoird J.P., Brisset M.N., 1999. Gene transfer for fire blight resistance in pear. *Acta Hort.* 489: 297-300.
- Costa G., Andreotti C., Bucchini F., Sabatini E., Bazzi C., 2002. Prohexadione-Ca (Apogee): growth regulation and reduced fire blight incidence in pear. *HortScience* (w druku).
- Evans J.R., Evans R.R., Regusci C.L., Rademacher W., 1999. Mode of action, metabolism and uptake of BAS 125W, prohexadione-calcium. *HortScience* 34: 9-10.
- Fernando W.G.D., Jones A.L., 1999. Prohexadione calcium, a tool for reducing secondary fire blight infection. *Acta Hort.* 489: 597- 600.
- Hanke V., During K., Norelli J.L., Aldwinckle H.S., 1999. Transformation of apple cultivars with T4-lysozyme-gene to increase fire blight resistance. *Acta Hort.* 489: 253-256.
- Hanke V., Kim W.-S., Geider K., Richter K., Norelli J.L., Aldwinckle H.S., 2001. Plant transformation for induction of fire blight resistance: transgenic apples expression viral eps-depolymerase. 9th International Workshop on Fire Blight Book of Abstracts O-29.
- Jankiewicz L.S., Sobiczewski P., 1997. Fitoaleksyny i inne substancje związane z odpornością roślin przeciwko patogenom. W: „Regulatory wzrostu i rozwoju roślin”; praca zbiorowa pod red. L.S. Jankiewicza, PWN Warszawa, 251-273.
- Jarosz J., Lipa J.J., 1988. Bacteriostatic and bactericidal activity of garlic preparations against six species of phytopathogenic bacteria of the genera *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Roczniki Nauk Rolniczych, Seria E*, t. 18, z.2: 191- 199.
- Johnson K.B., Stockwell V.O., 2000. Biological control of fire blight. W: Fire blight: the disease and its causal agent *Erwinia amylovora*. Ed. J. L. Vanneste. CAB International, Wallingford, UK, 319-337.
- Kearns L.P., Halle C.N., 1995. Incidence of bacteria inhibitory to *Erwinia amylovora* from blossoms from blossoms in New Zealand apple orchards. *Plant Pathology* 44 (5): 918-924.
- Kessmann H., Oostendorp M., Ruess W., Staub T., Kunz W., Ryals J., 1996. Systemic activated resistance – a new technology for plant disease control. *Pesticide Outlook*, 6: 1-4.
- Kim J.F., Bauer D.W., Bogdanove A.J., Wei Z., Dong H., Beer S.V., 1999. Secreted enigmatic proteins of *Erwinia amylovora* – for good and evil. *Acta Hort.* 489: 371-375.

- Krupiński G., 2001. Prognozowanie zagrożenia jabłoni przez zarazę ogniową (*Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al.) w rejonie Krakowa oraz niekonwencjonalne możliwości ochrony roślin przed tą chorobą. Praca doktorska AR Kraków, 129 s.
- Krupiński G., Sobiczewski P., 2001. Wpływ ekstraktów roślinnych na *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. Acta Agrobot. 54 (2): 5-16.
- Malnoy M., Briset M.N., Chevreau E., 2001. Expression of a depolymerase gene in transgenic pears increased only slightly their fire blight resistance. 9th International Workshop on Fire Blight Book of Abstracts P-59.
- Mende A., Mosch J., Zeller W., 1994. Untersuchungen zur resistenzinduktion durch ausgewählte Pflanzenextrakte gegen Feuerbrand (*Erwinia amylovora*). Z. Pfl.krankh. Pfl.schutz. 101 (2): 141-147.
- Momol M.T., Ugine J.D., Norelli J.L., Aldwinckle H.S., 1999. The effect of prohexadione calcium, SAR inducers and calcium on the control of shoot blight caused by *Erwinia amylovora* on apple. Acta Hort. 489: 601-605.
- Mosch J., Klingauf F., 1989. In-vitro-Untersuchungen über die Wirkung von Pflanzenextrakten auf den Erreger des Feuerbrandes, *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) 41, (8/9): 121-123.
- Mosch J., Zeller W., 1989. Bekämpfung des Feuerbrandes (*Erwinia amylovora*) mit ausgewählten Pflanzenextrakten. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) 41 8/9: 149-151.
- Mosch J., Klingauf F., Zeller W., 1990. On the effect of plant extracts against fire blight (*Erwinia amylovora*). Acta Hort. 273: 355-361.
- Mosch J., Rieck M., Ullrich W., Mende A., Zeller W., 1993. Plant extracts with a resistance induction effect against fire blight (*Erwinia amylovora*). Acta Hort. 338: 389-393.
- Mosch J., Zeller W., Rieck M., Ullrich W., 1996. Further studies on plant extracts with a resistance induction effect against *Erwinia amylovora*. Acta Hort. 411: 361-366.
- Mosch J., Zeller W., 1999. Control of fire blight with plant extracts based on resistance induction. Acta Hort. 489: 577- 582.
- Norelli J.L., Mills J.Z., Momol M.T., Aldwinckle H.S., 1999. Effect of cercopin-like transgenes on fire blight resistance of apple. Acta Hort. 489: 273-278.
- Norelli J.L., Aldwinckle H.S., 2000. Transgenic varieties and rootstocks resistant to fire blight. W: Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. Ed J. Vanneste. CAB International Wallingford UK, 275-292.
- Nuclo R.L., Johnson K.B., Stockwell V.O., Sugar D., 1998. Secondary colonization of pear blossoms by two bacterial antagonists of the fire blight pathogen. Plant Disease 82: 661-668.
- Ożarowski A., Jaroniewski W., 1987. Rośliny lecznicze i ich praktyczne zastosowanie. Warszawa. Instytut Wydawnictw Związków Zawodowych. 436 s.
- Pierrard A., Deckers T., Cheggour A., Vandebroek K., Drion R., Jijakli H.M., Lepoivre P., Thonart P., 2001. Application of bacteriocin as a biological agent against fire blight. 9th International Workshop on Fire Blight Book of Abstracts P-40.
- Psallidas P.G., Tsiantos J., 2000. Chemical control of fire blight. W: Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. Ed J. Vanneste. CAB International. Wallingford UK, 199-234.
- Rademacher W., 2000. Growth retardants: effects on gibberelin biosynthesis and other metabolic pathways. Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol. 51: 501-531.

- Reynolds J.P., Bauer D.W., Beer S.V., Aldwinckle H.S., 2001. The *hrp* gene cluster is required for activation of Pgst1 by *Erwinia amylovora* in transgenic apple. 9th International Workshop on Fire Blight Book of Abstracts P-49.
- Ryals J., Uknes S., Ward E., 1994. Systemic acquired resistance. *Plant Physiology* 104: 1109-1112.
- Scortichini M., Rossi M.P., 1991. In vitro susceptibility of *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. to geraniol and citronellol. *Journal of Applied Bacteriology* 71: 113-118.
- Scortichini M., Rossi M.P., 1993. In vitro behaviour of *Erwinia amylovora* towards some natural products showing bactericidal activity. *Acta Hort.* 338: 191-198.
- Sobiczewski P., Deckers T., Puławska J., 1997. Fire Blight (*Erwinia amylovora*), some aspects of epidemiology and control. Ed. Res. Institute of Pomology and Floriculture, Skierniewice, Poland, 86 s.
- Stockwell V.O., Johnson K.B., Loper J.E., 2001. Enhancement of biocontrol of fire blight by combining *Pseudomonas fluorescens* A506 with the iron chelate FeDDHA. 9th International Workshop on Fire Blight Book of Abstracts O-16.
- Sobiczewski P., Krupiński G., Berczyński S., Basak A., 2001. The effect of resistance inducers on the suppression of fire blight (*Erwinia amylovora*) on apple shoots and pear fruitlets. *Phytopathol. Pol.* 22: 171-182.
- Thomson S.V., Brisset M.N., Chartier R., Paulin J.P., 1999. Induced resistance in apple and pear seedlings to fire blight by BION and correlation with some defence-related enzymes. *Acta Hort.* 489: 583-588.
- Van der Zwet T., 1993. Manipulation of the epiphytic microbial community to promote biological control of *Erwinia amylovora* on pear and apple. *Acta Hort.* 338: 351.
- Van der Zwet T., Keil H.L., 1979. Fire blight - a bacterial disease of rosaceous plants, *Agric. Handbook* 510, U.S. Dept. of Agriculture, Washington D.C.
- Vanneste J.L., 1995. *Erwinia amylovora*. In: Pathogenesis and Host Specificity in Plant Diseases: Histopathologica; biochemical, genetic and molecular bases. vol. 1 prokaryotes, Eds. U.S. Singh, R.P. Singh & K. Kohmoto, Pergamon Press, Oxford, London: 21-41.
- Vanneste J.L., 1996. Honey bees and epiphytic bacteria to control fire blight, a bacterial disease of apple and pear. *Biocontrol News and Information*, vol. 17, 4, 67N-78N.
- Vanneste J.L., Cornish D.C., Yu J., Voyle M.D., Boyd R.J., 2001. P10C: A new biological control agent for control of fire blight on the New Zealand market, which can be sprayed or distributed using honey bees. 9th International Workshop on Fire Blight Book of Abstracts O-17.
- Vanneste J.L., Yu J., 1990. Control of fire blight by *Erwinia herbicola* EH252 in an experimental orchard in Dax. *Acta Hort.* 273: 409-410.
- Wasina A., 1987. Wykorzystanie roślin do zwalczania szkodników w sadach i ogrodach. PWRiL, Warszawa. 78 s.
- Wei Z.-M., Laby R.J., Zumoff C.H., Bauer D.W., He S.Y., Collmer A., Beer S.V., 1992. Harpin, elicitor of hypersensitive response produced by plant pathogenic bacterium *Erwinia amylovora*. *Science* 257: 85-88.
- Wilson M., Epton H.A.S., Sigee D.C., 1990. Biological control of fire blight of hawthorn. *Acta Hort.* 273: 363-365.
- Wilson M., Lindow S.E., 1993. Interactions between the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* A506 and *Erwinia amylovora* in pear blossoms. *Acta Hort.* 338: 329-330.

- W o d z i n s k i R. S., M u d g e t t M.B., B e e r S.V., 1990. Mechanism by which the antibiotic of *Erwinia herbicola* Eh318 inhibits *Erwinia amylovora* Ea 273. Acta Hort. 273: 390.
- W o d z i n s k i R.S., U m h o l t z T.E., R u n d l e J.R., B e e r S.V., 1994. Mechanisms of inhibition of *Erwinia amylovora* by *E. herbicola* in vitro and in vivo. Journal of Applied Bacteriology 76, 22-29.
- Y o d e r K.S., M i l l e r S.S., B y e r s R.E., 1999. Suppression of fire blight in apple shoots by prohexadione-calcium following experimental and natural inoculation. HortScience, 34: 1202-1204.
- Z a c c h e o A., 1990. Growth of *Erwinia amylovora* on extracts of susceptible *Rosaceae*. Acta Hort. 273: 339-341.
- Z e l l e r W., Z e l l e r V., 1999. Control of fire blight with the plant activator Bion. Acta Hort. 489: 639-645.

Niekonwencjonalne możliwości ochrony jabłoni i grusz przed zarazą ogniową (*Erwinia amylovora*)

Streszczenie

Standardowy program ochrony roślin przed zarazą ogniową obejmuje stosowanie metody agrotechnicznej i chemicznej. Ostatnio duże zainteresowanie wzbudzają niekonwencjonalne możliwości walki z chorobą obejmujące wykorzystanie czynników biologicznych (opracowano już i wprowadzono do praktyki sadowniczej preparaty Bliteban A506 na bazie bakterii *Pseudomonas fluorescens* oraz BlossomBless na bazie *Pantoea agglomerans*), ekstraktów z roślin zawierających substancje aktywne w stosunku do *Erwinia amylovora* (m.in. opracowano preparat AkseBio zawierający ekstrakty z *Thymra spicata* oraz Biomit Plusz z ekstraktami z różnych roślin i mikroelementami), indukowanie odporności roślin na chorobę (preparaty Regalis i Bion oraz ekstrakty roślin), a także transformację roślin genami kodującymi syntezę harpiny (*hrpN*), depolimerazę EPS (*dpo*), białka lityczne (cecropinę, atacynę, lizozym bakteriofaga T4).