

PREISKUŠANJE BIOTIČNIH PRIPRAVKOV ZA ZATIRANJE VERTICILIJSKE UVELOSTI IN FUZARIJSKIH OBOLENJ PARADIŽNIKA

Sebastjan RADIŠEK¹ in Jaka RAZINGER²

Izvirni znanstveni članek / original scientific paper

Prispelo / received: 25. 10. 2019

Sprejeto / accepted: 2. 12. 2019

Izvelek

V raziskavi smo proučevali delovanje biotičnih pripravkov za preprečevanje povzročiteljev verticilijske uvelosti (povzročiteljica *Verticillium dahliae* (VD)) in fuzarijskih obolenj (povzročiteljici *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) ter *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (FORL)) paradižnika. Z namenom zagotovitve homogene prisotnosti infekcijskega potenciala povzročiteljev smo testiranja zasnovali v obliki lončnega poskusa v rastlinjaku z uporabo umetno okuženih substratov. Pri preprečevanju FOL smo delovanje potrdili pri pripravkih Remedier, Prestop, Polyversum in Serenade ASO, pri preprečevanju FORL pa pri pripravkih Remedier, Prestop, Polyversum, ter Cilus Plus. V primeru preprečevanja VD, smo delovanje potrdili pri dveh bakterijskih pripravkih Serenade ASO in Cilus Plus ter pripravku na osnovi glive *Gliocladium catenulatum* (Prestop). Rezultati so potrdili širši spekter delovanja posameznih pripravkov, vendar ob visoki variabilnosti delovanja ter odvisnosti od vrste povzročitelja. Boljše rezultate smo dobili ob namakanju korenin sadik pred sajenjem kot v primeru zalivanja po sajenju. Izmerili smo relativno nizko učinkovitost pripravkov (do 50 % zmanjšanje okužb), kar je v primeru visokega infekcijskega potenciala v praksi nezadovoljivo. Iz omenjenega pri zatiranju talnih gliv svetujemo preventivno uporabo biotičnih agensov ali pa kot dopolnilo različnim programom izboljševanja zdravstvenega varstva tal.

Ključne besede: talne fitopatogene glive, vrtnarstvo, biotično varstvo rastlin

¹ Dr. Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, e-naslov: sebastjan.radisek@ihps.si

² Dr., Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Hacquetova ulica 17, 1000 Ljubljana, e-naslov: jaka.razinger@kis.si

TESTING OF BIOFUNGICIDS AGAINST VERTICILLIUM WILT AND FUSARIUM DISEASES OF TOMATO

Abstract

In the research we studied several biofungicides against verticillium and fusarium wilt (caused by *Verticillium dahliae* (VD) or *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) and *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (FORL), respectively) diseases on tomato. The testing was performed in glasshouse in potted plants by using artificially infected substrates. In the case of FOL we observed antagonistic effect of biofungicides Remedier, Prestop, Polyversum and Serenade ASO, whereas suppression of FORL was observed in biofungicides Remedier, Prestop, Polyversum and Cilus Plus. Testing against verticillium wilt (VD) revealed antagonistic effect of biofungicides Serenade ASO, Cilus Plus and *Gliocladium catenulatum* biofungicide Prestop. The results showed broad spectrum of several biofungicides; however we observed high level of variability in efficacy which depends also on the pathogen. Higher efficacy was obtained by root dipping method than drenching after planting, however overall efficacy was relatively low (<50% reduction of infected plants) which is not acceptable in commercial growing conditions in case of high soil infection potential. Based on our findings we advise the use of biofungicides against soil pathogens as preventive action or as additional measure to different soil disinfestation treatments which promotes soil health.

Key words: plant pathogenic soil fungi, vegetable production, biological plant protection

1 UVOD

Pri gojenju paradižnika se pridelovalci pogosto soočajo s pojavom uvelosti ter koreninskih in stebelnih gnilob, ki povzročajo oslABLJENO RAST IN ODMIRANJE RASTLIN. Med povzročitelji teh obolenj najdemo obsežen nabor različnih škodljivih organizmov, kot so talne glive iz rodov *Fusarium*, *Verticillium*, *Sclerotinia*, *Phoma* in *Rhizoctonia*, oomicete iz rodov *Phytophthora* in *Pythium*, bakterije iz rodov *Clavibacter* in *Ralstonia* ter viruse kot je npr. virus pegavosti in uvelosti paradižnika (Tomato spotted wilt virus – TSWV) (Jones s sod, 2019). Obolenja, ki so posledica okužb talnih gliv, spadajo med najpogostejša, pri čemur iz skupine fuzarioz prevladujeta fuzarijska uvelost paradižnika (*F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*) ter fuzarijska gniloba koreninskega vratu in korenin (*F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*) (Ajilogba in Babalola, 2013). V ZDA in Kanadi so opisana tudi obsežna odmiranja paradižnika zaradi okužb glive *F. solani* f. sp. *eumartii* (Romberg in Davis, 2007) ter glive *F. striatum* (Moine in sod., 2014). Poleg omenjenih fuzarijov je paradižnik občutljiv na pojav verticilijske uvelosti, kjer po patogenosti prevladujeta vrsti *Verticillium dahliae* (rasa 1 in 2) in *V.*

nonalfalae, okužbe pa lahko povzroča tudi gliva *V. tricorpus* (Inderbitzin s sod., 2011).

Skupna lastnost boleznim, ki jih povzročajo talne glive je predvsem pogosta neuspešnost zdravljenja okuženih rastlin, ter njihovo dolgotrajno ohranjanje v tleh v obliki trajnih organov. Tako uspešno preprečevanje okužb poleg odstranjevanja obolelih rastlin in sajenja odpornih sort temelji na različnih metodah sanacije tal, med katerimi prevladuje uporaba kemičnih fumigantov. Ob relativno visoki učinkovitosti preprečevanja pri kemičnih fumigantih trčimo ob njihovo strupenost in okolju obremenjujočih razpadnih produktov, ter posledično ukinjanju njihove uporabe. Iz omenjenega raziskovalci pospešeno razvijajo alternativne tehnologije nižanja talnega infekcijskega potenciala med katerimi se uveljavlja tudi uporaba biotičnih agensov (BA). Med BA, ki so se v okviru različni raziskav potrdili kot učinkoviti antagonisti talnih patogenih gliv spadajo rizo-bakterije *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia plymuthica* in različne vrste iz rodu *Bacillus*, medtem ko pri glivah najpogosteje srečamo vrste iz rodov *Talaromyces*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Coniothyrium*, *Pythium* in *Gliocladium* (Berg s sod., 2006, Fravel, 2005). Antagonizem omenjenih organizmov temelji predvsem na antibiotiki, produkciji, encimov, hormonov, parazitizmu in induciranju sistemske odpornosti. Tako med uspešne primere uporabe BA spada primer uporabe *B. subtilis* za zatiranje trohnobe citrusov (Manjula in sod., 2004), padavice sladkorne pese (Jorjani s sod., 2011) in verticilijske uvelosti bombaža (Shuqing in sod., 2013). Učinkovitost gliv iz rodu *Trichoderma* za zatiranje talnih patogenih gliv je raziskovalcem znana že iz začetka 60-ih let prejšnjega stoletja (Harman in sod., 2004). Med zadnjimi objavami najdemo uspešno uporabo *T. asperellum* za preprečevanje verticilijske uvelosti oljk, ki spada med najbolj uničujoče bolezni te rastlinske vrste (Carrero-Carron in sod., 2016).

V naši raziskavi smo se osredotočili na študijo učinkovitosti in načina uporabe nekaterih BA, ki jih najdemo na slovenskem in evropskem tržišču za preprečevanje okužb talnih gliv iz rodu *Fusarium* in *Verticillium*. Pri tem smo kot model preskušanja izbrali tri bolezni paradižnika: (1) fuzarijsko uvelost, (2) fuzarijsko gnilobo koreninskega vratu in korenin ter (3) verticilijsko uvelost.

2 MATERIAL IN METODE

Preskušanje smo izvedli v letu 2017 in 2018 v rastlinjaku Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) v obliki lončnega poskusa na paradižniku (sorta Heinz 1370). Kot vir inokula smo uporabili izolate gliv *V. dahliae* (Pap-46VD), *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (CBS 164.85) in *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (CBS 130306), ki jih hranimo v zbirki škodljivih organizmov na IHPS in so bili izolirani iz obolelih paradižnikov. Pred izvedbo določanja učinkovitosti BA smo izolatom z umetnimi okužbami v rastni komori (Kambič, RK-13300)

določili patogenost ter jih nato kot re-izolirane izolate uporabili v nadaljnjih preizkušanjih. Inokule smo v vseh poskusih pripravljali z gojenjem izolatov (7 dni) v GFM tekočem gojišču (Weising s sod.,1995) na horizontalnem rotacijskem stresalniku (60 vrt/min) pri sobni temperaturi. Namnoženo glivno maso smo precedili s pomočjo filter papirja in umerili inokulum na koncentracijo 10^7 CFU/ml (micelij in spore) s sterilno destilirano vodo. Sledila je inokulacija substrata (Presstopfs 70L/36/EP-Gramoflor, Nemčija) v odmerku 50 ml inokula v 1,5 l lonček.

V prvem letu smo v preizkušanje vključili 3 biotične pripravke: Remedier (glivi *T. asperellum*, *T. gamsii*), Prestop (gliva *Gliocladium catenulatum*, sev J1446) in Serenade ACO (bakterija *Bacillus subtilis*, sev QST 713), ki smo jih uporabili v obliki dveh vrst aplikacij: (I) 10 min namakanje koreninskega sistema pred sajenjem in (II) zalivanje po sajenju. V naslednjem letu smo preskušanje razširili še na pripravek Polyversum® (oomiceta *Pythium oligandrum*, sev M1 DV74) in Cilus® Plus (bakterija *Bacillus amyloliquefaciens*, sev IT45), kot aplikacijo pripravkov pa smo izbrali kombinacijo namakanja ob sajenju in zalivanja 14 dni po sajenju. Vsako kombinacijo glive in pripravka smo testirali v obsegu 10 rastlin/aplikacijo. Kontrolo preizkušanj so predstavljala obravnavanja brez uporabe pripravkov sajena v okužene substrate in rastline sajene v neokužen substrat. Rastline so bile v času inokulacij v razvojni fazi BBCH 12, po sajenju in uporabi pripravkov pa smo jih gojili v 1,5 l lončkih na bambusovi opori v rastlinjaku in jih oskrbovali v skladu z dobro agronomsko prakso. Rastlinam smo redno odstranjevali zalistnike in cvetove z namenom vzdrževanja homogenosti rasti. Oba poskusa smo izvedli od julija do septembra. Rastline smo po pojavu prvih bolezenskih znamenj ocenjevali v 14 dnevni intervalih s skalo od 0-5 glede na delež prizadete listne površine (Amer s sod., 2014). V času zadnjega ocenjevanja pa smo izvedli tudi meritve višine rastlin, sveže teže koreninskega sistema, oceno prizadetosti prevodnega tkiva (skala 0-2; 0 – brez rjavenja; 1- zaznana prisotnost rjavenja; 2 – izrazita porjavelost tkiva) in potrditvene re-izolacije. Podatke smo statistično ovrednotili s programom Statgraphic plus 4.0 z analizo variance (ANOVA) in testom mnogoterih primerjav (Duncan).

3 REZULTATI

Pojav prvih bolezenskih znamenj smo pri večini obravnavanj zaznali v petem tednu po inokulaciji, in sicer v obliki rumenjenja spodnjega dela listne mase, ki je napredovalo do nekroz posameznih listov (slika 1). Odmiranja celotnih rastlin nismo zaznali pri nobenem od obravnavanj, smo pa zaznali rjavenje prevodnega tkiva in slabši razvoj koreninskega sistema (slika 2). Med vsemi meritvami smo tako za vrednotenje delovanja pripravkov kot najpomembnejšo merilo določili (1) težo koreninskega sistema in (2) število okuženih rastlin. Pri prvem merilu smo delovanje pripravka pri posameznem obravnavanju upoštevali, če smo zaznali

značilno razliko z okuženo kontrolo. Pri drugem merilu smo prag delovanja pripravka postavili pri doseganju 50 % manj okuženih rastlin kot v primerjavi z okuženo kontrolo. Pojava fitotoksičnosti zaradi uporabe pripravkov na rastlinah v obeh letih preizkušanja nismo opazili. Z namenom lažje interpretacije v nadaljevanju predstavljamo rezultate preizkušanja za vsako glivo ločeno.

3.1 *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*

V prvem letu preizkušanja smo najvišjo stopnjo preprečevanja fuzarijske uvelosti paradižnika zaznali pri pripravku Remedier, pri aplikaciji namakanje. V primeru zalivanja je Remedier na nivoju teže korenin pokazal slabše rezultate, vendar še vedno dobro delovanje glede na število okuženih rastlin. Učinkovitost delovanja smo zaznali tudi pri pripravkih Prestop in Serenade ASO, pri čemur smo pri slednjemu zaznali slabše rezultate pri aplikaciji zalivanje (preglednica 1).

Preglednica 1: Vpliv biotičnih pripravkov na rast paradižnika po okužbi z glivo *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* v letu 2017

Biotični pripravek/konc.	** Aplikacija (ob sajenju)	*Višina (\bar{x} , cm)	*Teža korenin (\bar{x} , g)	*Bolezenska znamenja (povprečna vrednost vizualnih ocen)			*** Št. okuženih rastlin
				Listi	Korenine	Kor. vrat	
Remedier – 0.5%	namakanje	142,4 ^b	37,5 ^b	0,4 ^a	1,0 ^{cd}	0,6 ^b	6
	zalivanje	128,6 ^{ab}	24,8 ^{ab}	1,0 ^a	1,0 ^{cd}	0,6 ^b	5
Prestop – 0.5%	namakanje	110,9 ^a	30,9 ^{ab}	0,6 ^a	0,7 ^{bcd}	0,9 ^{bc}	10
	zalivanje	126,6 ^{ab}	30,6 ^{ab}	0,8 ^a	1,2 ^a	1,0 ^c	9
Serenade ASO - 4%	namakanje	127,8 ^{ab}	30,3 ^{ab}	0,6 ^a	0,4 ^{ab}	0,8 ^{bc}	9
	zalivanje	117,9 ^a	21,81 ^a	0,3 ^a	0,9 ^{bcd}	1,0 ^c	8
Okužena kontrola	/	125,4 ^{ab}	22,1 ^a	1,8 ^b	0,5 ^{bc}	1,0 ^c	10
Neokužena kontrola	/	127,5 ^{ab}	36,4 ^{ab}	0,2 ^a	0 ^a	0 ^a	0

*Povprečne vrednosti označene z enakimi črkami se statistično ne razlikujejo med seboj pri stopnji tveganja 0.05 (Duncan Multiple Range Test).

**Namakanje koreninskega sistema sadik v fazi višine 10-15 cm (10 min) v suspenziji pripravka.

***Št. Rastlin, pri katerih smo zaznali porjavlost prevodnega tkiva na bazalnem delu stbla.

V drugem letu testiranja smo pripravke uporabili v kombinirani aplikaciji namakanje ob sajenju in zalivanje 14 dni po sajenju. Pri tem smo najvišjo učinkovitost na nivoju teže korenin zaznali pri pripravku Polyversum. Vsi ostali pripravki so izkazovali nizko stopnjo delovanja, vključno s pripravkom Remedier, s katerim smo v letu 2017 dosegli najboljše rezultate. Pripravek Polyversum je potrdil delovanje tudi na nivoju števila okuženih rastlin, 50% manj okužb pa smo zaznali tudi pri pripravku Serenade ASO (preglednica 2).

Preglednica 2: Vpliv biotičnih pripravkov na rast paradižnika po okužbi z glivo *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* v letu 2018

Biotični pripravek/konc.	** Aplikacija	* Višina (\bar{x} , cm)	* Teža korenin (\bar{x} , g)	*Bolezenska znamenja (povprečna vrednost vizualnih ocen)			Št. okuženih rastlin***
				Listi	Korenine	Kor. vrat	
Remedier – 0.5%	namakanje + zalivanje	92,1 ^b	6,98 ^a	0,4 ^{abc}	1,4 ^c	0,6 ^{abc}	5
Prestop – 0.5%	namakanje + zalivanje	78,3 ^a	7,59 ^a	0,1 ^{ab}	1,5 ^{cd}	0,3 ^{ab}	7
Serenade ASO - 4%	namakanje + zalivanje	81,0 ^{ab}	6,75 ^a	0,7 ^{cd}	1,7 ^{cd}	0,9 ^{bc}	3
Polyversum - 0.05%	namakanje + zalivanje	86,4 ^{ab}	12,22 ^b	0,0 ^a	0,9 ^b	0,3 ^{ab}	3
Cilus Plus – 0.01%	namakanje + zalivanje	81,3 ^{ab}	7,42 ^a	0,5 ^{bcd}	1,4 ^c	1,1 ^c	7
Okužena kontrola	/	83,7 ^{ab}	9,62 ^{ab}	0,9 ^d	1,9 ^d	0,7 ^{bc}	6
Neokužena kontrola	/	87,6 ^{ab}	16,13 ^c	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0

*Povprečne vrednosti označene z enakimi črkami se statistično ne razlikujejo med seboj pri stopnji tveganja 0.05 (Duncan Multiple Range Test).

**Namakanje koreninskega sistema sadik v fazi višine 10-15 cm (10 min) v suspenziji pripravka, zalivanje 14 dni po sajenju

***Št. rastlin, pri katerih smo zaznali porjavlost prevodnega tkiva na bazalnem delu stebela

3.2 *Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici*

Pri preprečevanju fuzarijske gnilobe koreninskega vratu in korenin paradižnika smo v prvem letu preizkušanja na nivoju teže korenin ugotovili delovanje pri vseh uporabljenih pripravkih ne glede na način aplikacije (namakanje, zalivanje). Med temi je izstopalo obravnavanje s pripravkom Prestop pri aplikaciji namakanje, kjer smo dosegli najvišji nivo delovanja. V primeru delovanja na nivoju števila okuženih rastlin nismo opazili bistvenih razlik med pripravki in okuženo kontrolo (preglednica 3).

V drugem letu preizkušanja je testiranje na nivoju teže korenin potrdilo delovanje pripravkov Remedier, Polyversum in Cilus Plus, medtem ko pripravka Prestop in Serenade ASO nista pokazala statistično značilnih razlik z okuženo kontrolo. Med pripravki pri katerih smo ugotovili delovanje je izstopal Remedier z najvišjo maso korenin in najnižjim deležem okuženih rastlin (preglednica 4).

Preglednica 3: Vpliv biotičnih pripravkov na rast paradižnika po okužbi z glivo *F. oxysporum f.sp. radidis-lycopersici* v letu 2017

Biotični pripravek/konc.	**Aplikacija (ob sajenju)	*Višina (\bar{x} , cm)	*Teža korenin (\bar{x} , g)	*Bolezenska znamenja (povp. vrednost vizualnih ocen)			***Št. okuženih rastlin
				Listi	Korenine	Kor. vrat	
Remedier – 0.5%	namakanje	112,5 ^{bc}	24,14 ^{ab}	1,4 ^{bc}	0,6 ^b	0,8 ^b	7
	zalivanje	124,0 ^c	23,46 ^{ab}	0,7 ^{ab}	0,7 ^b	0,7 ^b	8
Prestop – 0.5%	namakanje	118,5 ^c	28,96 ^b	0,8 ^{abc}	0,9 ^b	0,7 ^b	10
	zalivanje	98,4 ^{bc}	21,04 ^{ab}	0,3 ^a	0,7 ^b	1,0 ^b	7
Serenade ASO - 4%	namakanje	101,7 ^{bc}	22,82 ^{ab}	1,5 ^c	0,9 ^b	0,8 ^b	8
	zalivanje	49,3 ^a	19,74 ^{ab}	1,2 ^{bc}	0,8 ^b	0,8 ^b	8
Okužena kontrola	/	81,8 ^b	11,48 ^a	2,8 ^d	1,5 ^c	1,0 ^b	10
Neokužena kontrola	/	127,5 ^c	36,37 ^b	0,2 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0

*Povprečne vrednosti označene z enakimi črkami se statistično ne razlikujejo med seboj pri stopnji tveganja 0.05 (Duncan Multiple Range Test).

**Namakanje koreninskega sistema sadik v fazi višine 10-15 cm (10 min) v suspenziji pripravka.

***Št. rastlin, pri katerih smo zaznali porjavlost prevodnega tkiva na bazalnem delu stebela.

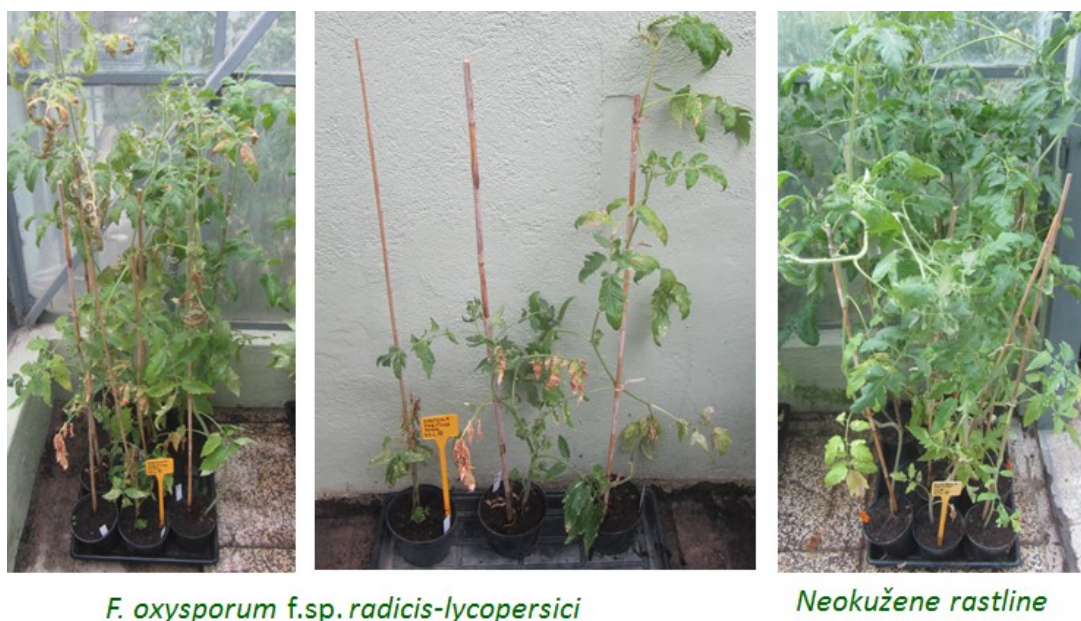
Preglednica 4: Vpliv biotičnih pripravkov na rast paradižnika po okužbi z glivo *F. oxysporum f.sp. radidis-lycopersici* v letu 2018

Biotični pripravek/konc.	**Aplikacija	*Višina (\bar{x} , cm)	*Teža korenin (\bar{x} , g)	*Bolezenska znamenja (povprečna vrednost vizualnih ocen)			Št. okuženih rastlin***
				Listi	Korenine	Kor. vrat	
Remedier – 0.5%	namakanje + zalivanje	87,7 ^b	18,56 ^b	0,9 ^b	1,1 ^b	0,4 ^{ab}	3
Prestop – 0.5%	namakanje + zalivanje	70,6 ^a	13,38 ^a	0,8 ^b	1,3 ^b	1,0 ^c	10
Serenade ASO - 4%	namakanje + zalivanje	84,9 ^{ab}	13,24 ^a	0,7 ^b	1,4 ^b	1,8 ^d	9
Polyversum - 0.05%	namakanje + zalivanje	73,9 ^{ab}	16,03 ^{ab}	0,8 ^b	1,2 ^b	0,9 ^{bc}	7
Cilus Plus – 0.01%	namakanje + zalivanje	87,7 ^b	16,13 ^{ab}	0,8 ^b	1,3 ^b	0,9 ^{bc}	7
Okužena kontrola	/	81,4 ^{ab}	13,08 ^a	0,7 ^b	1,3 ^b	1,1 ^c	9
Neokužena kontrola	/	87,6 ^b	16,13 ^{ab}	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0

*Povprečne vrednosti, označene z enakimi črkami, se statistično ne razlikujejo med seboj pri stopnji tveganja 0.05 (Duncan Multiple Range Test).

**Namakanje koreninskega sistema sadik v fazi višine 10-15 cm (10 min) v suspenziji pripravka, zalivanje 14 dni po sajenju

***Št. rastlin, pri katerih smo zaznali porjavlost prevodnega tkiva na bazalnem delu stebela.



Slika 1: Pojav bolezenskih znamenj nadzemnega dela paradižnika 7 tednov po okužbi z glivo *F. oxysporum f.sp. radicis-lycopersici*, ki povzroča fuzarijsko gnilobo koreninskega vratu in korenin paradižnika (Testiranje v letu 2017; foto: S. Radišek).

Preglednica 5: Vpliv biotičnih pripravkov na rast paradižnika po okužbi z glivo *Verticillium dahliae* v letu 2017

Biotični pripravek/konc.	** Aplikacija (ob sajenju)	*Višina (\bar{x} , cm)	*Teža korenin (\bar{x} , g)	*Bolezenska znamenja (povprečna vrednost vizualnih ocen)			*** Št. okuženih rastlin
				Listi	Korenine	Kor. vrat	
Remedier – 0.5%	namakanje	131,4 ^a	22,09 ^a	0,2 ^a	0,8 ^c	0,8 ^b	7
	zalivanje	117,7 ^a	16,77 ^a	0,9 ^b	0,9 ^c	0,7 ^b	8
Prestop – 0.5%	namakanje	125,1 ^a	23,75 ^{ab}	0,5 ^{ab}	0,7 ^{bc}	0,6 ^b	7
	zalivanje	112,2 ^a	29,1 ^{ab}	0,1 ^a	1,0 ^c	0,7 ^b	6
Serenade ASO - 4%	namakanje	127,9 ^a	20,35 ^a	0,6 ^{ab}	0,9 ^c	0,4 ^b	5
	zalivanje	137,4 ^a	28,59 ^{ab}	0,0 ^a	0,4 ^b	0,5 ^b	7
Okužena kontrola	/	140,7 ^a	18,65 ^a	1,8 ^c	0,9 ^c	0,9 ^b	9
Neokužena kontrola	/	127,5 ^a	36,37 ^b	0,2 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0

*Povprečne vrednosti označene z enakimi črkami se statistično ne razlikujejo med seboj pri stopnji tveganja 0.05 (Duncan Multiple Range Test).

**Namakanje koreninskega sistema sadik v fazi višine 10-15 cm (10 min) v suspenziji pripravka.

***Št. rastlin, pri katerih smo zaznali porjavlost prevodnega tkiva na bazalnem delu stbla

3.3 *Verticillium dahliae*

V prvem letu preprečevanja verticilijske uvelosti paradižnika smo na nivoju teže korenin potrdili delovanje pripravka Prestop pri aplikaciji namakanje in zalivanje, ter

pri pripravku Serenade pri aplikaciji zalivanje. Ostala obravnavanja se niso statistično razlikovala od okužene kontrole (preglednica 5).

V drugem letu preizkušanja smo najvišjo težo korenin zaznali pri pripravku Cilus Plus, na nivoju števila okuženih rastlin pa smo delovanje zaznali pri pripravku Serenade ASO. Ostala obravnavanja niso pokazale statistične razlike z okuženo kontrolo (preglednica 6).

Preglednica 6: Vpliv biotičnih pripravkov na rast paradižnika po okužbi z glivo *Verticillium dahliae* v letu 2018

Biotični pripravek/konc.	** Aplikacija	* Višina (\bar{x} , cm)	* Teža korenin (\bar{x} , g)	*Bolezenska znamenja (povprečna vrednost vizualnih ocen)			Št. okuženih rastlin***
				Listi	Korenine	Kor. vrat	
Remedier – 0.5%	namakanje + zalivanje	55,5 ^a	8,16 ^a	1,0 ^{cd}	1,4 ^c	1,3 ^d	9
Prestop – 0.5%	namakanje + zalivanje	86,2 ^{bc}	18,7 ^b	0,2 ^{ab}	0,8 ^b	0,3 ^{ab}	9
Serenade ASO - 4%	namakanje + zalivanje	77,8 ^b	16,87 ^b	0,8 ^{cd}	1,0 ^{bc}	1,3 ^d	3
Polyversum - 0.05%	namakanje + zalivanje	87,0 ^{bc}	20,22 ^b	0,5 ^{abc}	0,8 ^b	1,2 ^{cd}	9
Cilus Plus – 0.01%	namakanje + zalivanje	86,6 ^{bc}	25,35 ^c	0,6 ^{bcd}	0,6 ^b	0,7 ^{bc}	8
Okužena kontrola	/	90,7 ^c	18,26 ^b	1,1 ^d	0,5 ^{ab}	0,7 ^{bc}	6
Neokužena kontrola	/	87,6 ^{bc}	16,13 ^b	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0

*Povprečne vrednosti, označene z enakimi črkami, se statistično ne razlikujejo med seboj pri stopnji tveganja 0.05 (Duncan Multiple Range Test).

**Namakanje koreninskega sistema sadik v fazi višine 10-15 cm (10 min) v suspenziji pripravka, zalivanje 14 dni po sajenju

***Št. rastlin, pri katerih smo zaznali porjavlost prevodnega tkiva na bazalnem delu stebela.

4 RAZPRAVA IN ZAKLJUČKI

V raziskavi smo proučevali delovanje biotičnih pripravkov na osnovi različnih mikroorganizmov za preprečevanje povzročiteljev verticilijske uvelosti in fuzarijskih obolenj paradižnika. Z namenom zagotovitve homogene prisotnosti infekcijskega potenciala povzročiteljev smo testiranja zasnovali v obliki lončnega poskusa v rastlinjaku z uporabo umetno okuženih substratov. Pri preprečevanju glive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL), ki povzroča fuzarijsko uvelost paradižnika smo delovanje potrdili pri pripravkih Remedier, Prestop, Polyversum in Serenade ASO. Podobne rezultate smo dobili tudi pri preprečevanju glive *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, z dobrim antagonističnem delovanjem pripravkov Remedier, Prestop, Polyversum, ter pripravka na osnovi bakterije *BaCilus amyloliquefaciens* (Cilus Plus). V primeru preprečevanja verticilijske

uvelosti, ki jo povzroča gliva *V. dahliae*, pa smo delovanje potrdili pri dveh bakterijskih pripravkih Serenade ASO in Cilus Plus ter pripravku na osnovi glive *Gliocladium catenulatum* (Prestop).



F. oxysporum f.sp. radicis-lycopersici



Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici



Verticillium dahliae

Slika 2: Primerjava koreninskega sistema v poskusu kontrolnih okuženih (bela, oranžna, rumena) in neokuženih rastlin (modra) (levi stolpec fotografij) ter prizadetost prevodnega sistema (desni stolpec fotografij) na bazalnem delu rastlin po vzdolžnem prerezu (foto: S. Radišek).

Rezultati tako kažejo na širši spekter delovanja posameznih pripravkov, vendar tudi na odvisnost od vrste povzročitelja. To pomeni, da je pred uporabo pripravkov potrebno ugotoviti povzročitelja in na osnovi te informacije pripraviti program

varstva rastlin. Pri tem je potrebno upoštevati, da se predvsem v vrtnarstvu pridelovalci pogosto srečujejo s sočasno prisotnostjo več različnih talnih patogenih organizmov.

Pri primerjavi načina uporabe pripravkov so rezultati poskusa pokazali višji nivo delovanja pri aplikaciji namakanja korenin sadik pred sajenjem kot v primeru zalivanja po sajenju. To samo potrjuje pomembnost pravilne uporabe (aplikacije) posameznega pripravka, ki mora biti prilagojena biologiji BA, tarčnega organizma in gojene rastline. Prav tako na učinkovitost pripravkov lahko vpliva več dejavnikov kot so pravilna priprava pripravka, viabilnost BA v pripravkih, ohranjanja BA v tleh in rizosferi, odmerek pripravka, višina infekcijskega potenciala povzročitelja bolezni, gnojenje, priprava tal, namakanje in fenološka faza rastline (Spadaro in Gullino, 2005). Ti dejavniki lahko pojasnjujejo visok nivo variabilnosti rezultatov naših poskusov in tudi mnogih predhodnih raziskav (Larkin in Fravel, 1998), kljub zagotavljanju uniformnih pogojev med ponovitvami testiranj.

Izpostaviti je potrebno tudi relativno nizko učinkovitost pripravkov na nivoju rezultatov števila okuženih rastlin pri posameznem obravnavanju. Ta je le redko dosegla 50 % zmanjšanje okužb, kar je v primeru visokega infekcijskega potenciala v praksi nezadovoljivo. V določenih primerih lahko z višanjem koncentracije in pogostnosti uporabe pripravka ter kombinacijami različnih pripravkov (Alabouvette in sod., 1998) zvišamo nivo učinkovitosti, vendar trčimo ob ekonomsko nevzdržnost. Iz omenjenega se pristopi uporabe BA pri zatiranju talnih gliv vključujejo kot preventivni ukrep ali pa kot dopolnilo programom zdravstvenega varstva tal kot je biofumigacija, solarizacija, vnašanje različnih organskih in anorganskih izboljševalcev tal, ki prispevajo k ohranjanju in razvoju BA v tleh ter seveda ob sajenju sort, ki omogočajo kompatibilnost BA z njihovo rizosfero.

Zahvala. Avtorja se za finančno podporo zahvaljujeta Javni agenciji za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije (CRP projekt: V4-1602; raziskovalna programa: P4-0077 in P4-0072). Hkrati se avtorja zahvaljujeva naslednjim podjetjem za brezplačno donacijo pripravkov: Bayer Crop Science, Biopreparaty, spol.s r.o., Karsia d.o.o. in Metrob.

5 VIRI

- Ajillogba C., Babalola, O. Integrated Management Strategies for Tomato Fusarium Wilt. *Biocontrol Science*. 2013; 18. 117-27.
- Alabouvette C., Schippers, B., Lemanceau, P., Bakker, P.A.H.M. Biological control of Fusarium wilts: toward development of commercial products. V: Boland, G.J., Kuykendall, L.D. (ur), *Plant-Microbe interactions and Biological Control*. Marcel Dekker, New York, USA, 1998. 15-36.

- Amer M. A., El-Samra A., Abou-El-Seoud I.I., Sawsan M. El-Abd, Shawertamim N.K. Induced Systemic Resistance in Tomato Plants against Fusarium Wilt Disease using Biotic Inducers. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 2014 3(4): 1090-1103.
- Berg G., Hallmann J. Control of plant pathogenic fungi with bacterial endophytes. V: Schulz BJE., Boyle CJC., Sieber TN, (ur), Springer-Verlag, Berlin. *Microbial Root Endophytes*, 2006. 53–69.
- Carrero-Carrón I., Trapero-Casas JL., Olivares-García C., Monte E., Hermosa R., Jiménez-Díaz RM. *Trichoderma asperellum* is effective for biocontrol of *Verticillium* wilt in olive caused by the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae*. *Crop protection*. 2016. 88, 45-52.
- Fravel D. R. Commercialization and implementation of bio control. *Annual review of Phytopathology*. 2005. 43: 337-359.
- Harman G. E., Howell, C. R., Vitarbo, A., Chet, I., Lorito, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Rev. Microbiol*. 2004. 2:43-56.
- Inderbitzin P, Bostock R. M, Davis R. M, Usami T, Platt H. W. Phylogenetics and Taxonomy of the Fungal Vascular Wilt Pathogen *Verticillium*, with the Descriptions of Five New Species. *PLoS ONE*. 2011. 6(12): e28341.
- Jones J. B., Zitter T. A., Momol M. T., Miller S. A. (ur). *Compendium of Tomato Diseases and Pests*, 2nd Ed. 2014. APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
- Jorjani M., Heydari A., Zamanizadeh H.R., Rezaee S., Naraghi L. Controlling sugar beet mortality disease by application of new bioformulations. *J. Plant Prot. Res*. 2011. 52 (3): 303–307.
- Larkin R. P., Fravel, D. R. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of Fusarium wilt of tomato. *Plant Disease*. 1998. 82:1022-1028.
- Manjula K., Krishna G.K., Podile A.R. Whole cell of *Bacillus subtilis* AF1 proved more effective than cell-free and chitinase-based formulations in biological control of citrus fruit rot and groundnut rust. *Can. J. Microbiol*. 2004. 50 (9): 737–744.
- Moine L. M., Labbé C., Louis-Seize G., Seifert K. A., Bélanger R. R. Identification and detection of *Fusarium striatum* as a new record of pathogen to greenhouse tomato in Northeastern America. *Plant Disease*. 2014. 98:292-298.
- Romberg M. K., Davis R. M. Host range and phylogeny of *Fusarium solani* f. sp. *eumartii* from potato and tomato in California. *Plant Disease*. 2007. 91:585-592.
- Shuqing Li., Nan Zhang, Zhenhua Zhang, Jia Luo, Biao Shen, Ruifu Zhang, Qirong Shen. Antagonist *Bacillus subtilis* HJ5 controls *Verticillium wilt* of cotton by root colonization and biofilm formation. *Biology and Fertility of Soils*. 2013. 49: 295-303.
- Spadaro D., Gullino M.L. Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens, *Crop Protection*. 2005, 24 (7). 601-613.