

# INFLUENCE OF MECHANICAL-CHEMICAL MEASURES FOR REHABILITATION BACTERIAL CANCER GRAPEVINE (AGROBACTERIUM VITIS)

## UTJECAJ MEHANIČKO–KEMIJSKIH MJERA NA SANACIJU BAKTERIJSKOG RAKA VINOVE LOZE ( AGROBACTERIUM VITIS)

SVITLICA, Brankica; HAJDA, Dorijan; MESIC, Josip; ZRINŠČAK, Stanko &  
TULICIC, Mirjana

**Abstract:** *Bacterial canker of grapevine (Agrobacterium vitis) is economically very damaging disease in all regions of the world where the grown grapes and in Croatia. The aim of this study was to determine the intensity of cancer grapevine varieties Zweigelt. The research has concentrated on recording and labeling of diseased vines visual spotting the characteristic symptoms of the disease. Following the completion of monitoring applied are mechanical-chemical remediation measures diseases direct cutting tumorastih growths and coating the wound with sulfur and copper preparations for the purpose of examining the possibility of preventing further spread.*

**Key words:** *Bacterial cancer, Agrobacterium vitis, vine, Zweigelt, sulfur and copper preparations*

**Sažetak:** *Bakterijski rak vinove loze (Agrobacterium vitis) predstavlja ekonomski vrlo štetno oboljenje u svim regijama svijeta gdje se uzgaja vinova loza pa i u Hrvatskoj. Cilj rada bio je utvrditi intenzitet pojave raka vinove loze na sorti Zweigelt. Istraživanje se baziralo na evidentiranju i označavanju oboljelih trsova vizualnim uočavanjem karakterističnih simptoma bolesti. Nakon provedenog monitoringa primjenjene su mehaničko-kemijske mjere sanacije bolesti direktnim izrezivanjem tumorastih izraslina te premazivanjem rana sumpornim i bakrenim preparatima sa svrhom ispitivanja mogućnosti sprječavanja daljnjeg širenja.*

**Ključne riječi:** *Bakterijski rak, Agrobacterium vitis, vinova loza, Zweigelt, sumporni i bakreni preparati*



**Authors' data:** Dr.sc. Brankica Svitlica, Veleučilište u Požegi, Vukovarska 17, Požega, bsvitlica@vup.hr; Dorijan Hajda, student; Mr.sc. Josip Mesić, Veleučilište u Požegi, Vukovarska 17, 34000 Požega, jmesic@vup.hr; Mr.sc. Stanko Zrinščak, Veleučilište u Požegi, Vukovarska 17, 34000 Požega, szrinscak@vup.hr; Mirjana, Tuličić, mag .ing., PO Jabuka, Dr. F. Tuđmana 94, 32236 Ilok.

## 1. Uvod

Bakterijski rak predstavlja najučestaliju i najštetniju bakterioznu bolest vinove loze, čiji je uzročnik vrsta *Bacterium vitis* [2];[3]. Patogene vrste roda *Agrobacterium* imaju širok spektar domaćina, iako unutar roda postoje i usko specijalizirani sojevi [1]. Grupa sojeva izolirana sa vinove loze svrstana je u biovar 3 na osnovu biokemijskih i fizioloških karakteristika [8];[4];[10]. Patogeni sojevi *Agrobacterium spp.* posjeduju zajedničku karakteristiku da sadrže najmanje jedan veliki plazmid: Ti (tumor-inducing) ili Ri (root-inducing). Rak korijena i korjenovog vrata prouzrokuju sojevi koji posjeduju Ti plazmid, a sojevi koji posjeduju Ri plazmid uzrokuju dlakavost korijena vinove loze. Štetni učinci bakterijskog raka očituju se kroz smanjenje bujnosti trsova i uroda grožđa kod zaraženih biljaka i do 40% [9]. Kod jačih zaraza ova bakterioza može prouzročiti izumiranje pojedinih organa ili čitavih trsova, pri čemu je izumiranje osobito izraženo kod mlađih biljaka ako je bolest zahvatila spojno mjesto podloge i plemke. Destruktivnost ove bakterioze može biti izražena i u samim rasadnicima što se ogleda kroz neučinkovito srastanje i prijem cijepova, dok su cjepovi sa karakterističnim simptomima tržišno neprihvatljivi i neupotrebljivi. Simptomi bakterijskog raka ispoljavaju se u vidu tumora na nadzemnim organima vinove loze, osobito na prizemnom stablu, oko spojnog mjesta podloge i plemke, ali i na kracima i lucnjevima trsova, nekada i do jednog metra iznad površine tla [2];[3]. Prvi simptomi pojavljuju se početkom proljeća i najčešće su neuočljivi, obzirom da su tumori u početnim fazama prekriveni mrtvom korom stabla. Daljim razvojem bolesti tumori se uvećavaju te mogu biti lokalizirani i pojedinačni, ili dolazi do razvoja dužih kontinuiranih zadebljanja cilindričnog, ili kruškastog oblika. Tumorne (rakaste) izrasline nastaju kao posljedica hipertrofije stanica, a sastoje se od odrvenjelih stanica koje su neravne i nepravilne, a mogu biti različitog oblika i veličine. Jača pojava raka utvrđena je nakon jakih zima i to stoga što bakterija prodire u drvo loze kroz rane nastale kao posljedica niskih temperatura. Bakterija u tkivu biljke izlučuje tvari koje potiču intenzivnu diobu stanica, te na taj način nastaju tumoraste izrasline koje se na lozi mogu zadržati i više godina te nakon raspadanja u tlo ponovno dospijevaju bakterije koje tako mogu preživjeti i nekoliko godina. Patogene vrste roda *Agrobacterium* mogu imati širok spektar domaćina, ali postoje i usko specijalizirani sojevi [1]. *Agrobacterium vitis* sistemčno zaražava vinovu lozu, prisutan je u ksilemskim provodnim snopovima te se može kretati provodnim staničjem domaćina [6];[11]. Patogen može pokazivati i latentnost u materijalu bez karakterističnih simptoma sve dok se ne uspostave povoljni uvjeti za razvoj bolesti. Bakterija se može razviti u vrlo širokom rasponu temperatura ( od 0 do 37°C) i vlage, najpovoljniji uvjeti za razvoj su između 25 i 30°C i pri relativnoj vlazi zraka 80%. Razdoblje inkubacije traje dugo pa se tumor može pojaviti tek nakon dva mjeseca nakon infekcije.

Izvor zaraze je bakterija u tlu, i to u rizosferi u blizini zaraženih trsova, a može se održati i nekoliko godina u saprofitskoj fazi u biljnim ostatcima vinove loze obzirom da se dijelovi korijena loze mogu održati u tlu i duži vremenski period nakon vađenja trsova.

## 2. Cilj istraživanja

Cilj istraživanja je bio utvrditi pojavnost raka vinove loze na sorti Zweigelt te primjenom mehaničko-kemijskih mjera sanacije umanjiti intenzitet i brzinu širenja bolesti. Istraživanjem se prvenstveno nastojao napraviti mikromonitoring prisustva bolesti u vinogradu OPG-a Zrinščak na položaju Milanovac u Požeškom vinogorju evidentiranjem broja oboljelih trsova na osnovu prisutnih vizualnih simptoma bolesti. Primjenom mjera mehaničkog odstranjivanja (izrezivanja) tumorastih izraslina i tretiranja rana visokim koncentracijama sumpora te mješavine sumpora i bakra nastojala se zaustaviti i spriječiti daljnja zaraza s *Agrobacterium vitis* i utvrditi učinak primijenjenih mjera.

## 3. Materijali i metode istraživanja

Istraživanje je provedeno u vinogradu starosti sedam godina na OPG-u Zrinščak na položaju Milanovac, površine 1 ha, zasađenog sortom Zweigelt (4000 trsova) na razmak sadnje 2,60 x 0,90 m. Pojava raka na trsovima sorte utvrđivala se vizualnim pregledom svakog pojedinog trsa. Pregledavao se vrat korijena i stablo trsa te vršila vizualna procjena simptomima bakterijskog raka koji se manifestiraju odrvenjelim tumorastim izraslinama. Trsovi sa uočenim simptomima raka obilježavani su crvenom trakom. Obilježavanje je provedeno u okviru tjedan dana (26. 03. - 01. 04. 2014. godine). Radi lakšeg evidentiranja zaraženih trsova nasad je u istraživanju podijeljen na dva dijela (A i B nasad). Evidentiranje se vršilo tako da se zapisivao redni broj zaraženog trsa u redu, prolaskom kroz red brojao se svaki trs te se nailaskom na onaj obilježen crvenom trakom (zaražen *A. vitis*) zapisivao njegov redni broj, kako bi se točno znala lokacija svakog zaraženog trsa u nasadu. Nakon evidentiranja oboljelih trsova izrađen je tabelarni prikaz stanja A i B nasada. Mjere sanacije provedene su se 09. 05. i 02. i 03. 06. 2014. godine. Svaki zaraženi trs najprije je očišćen od starih odrvenjelih izraslina pomoću žičane četke i vinogradarskih škara.

Pristupilo se odstranjivanju tumornih izraslina izrezivanjem te premazivanja rana/zaraženih mjesta sumporom i bakrom. Pri odstranjivanju izraslina nastojalo se ukloniti zaraženo tkivo u potpunosti, dok se ne dođe do zdravog biljnog tkiva. Nakon odstranjivanja dio nasada od 1. do 7. (A i B) reda se premazivao 10%-tnom koncentracijom otopine sumpora dok se dio od 8. do 13. (A i B) reda premazivao mješavinom 10%-tne koncentracije sumpora i 10%-tne koncentracije bakra (Cuprablau Z), zbog uspoređivanja djelotvornosti dva sredstva na zaražene trsove. Sredstva su nanošena premazivanjem očišćenih rana pomoću kistova. Utvrđivanje rezultata sanacije i broja novooboljelih trsova vršeno je tijekom kolovoza (18. i 19. 08. 2014. godine). Prilikom pregleda pozornost je bila usmjerena na utvrđivanje broja tretiranih trsova koji ne pokazuju znakove razvoja novih tumornih izraslina, broja trsova koji su razvili tumorne izrasline usprkos tretiranjima, te utvrđivanje broja novo oboljelih trsova. Obilježavanje je vršeno bojanjem potpornih kolaca akrilnim sprejom u boji. Pri pregledavanju trsova, kod onih koji su već evidentirani kao zaraženi i usprkos tretiranju pokazuju nove simptome zaraze kolac je obojan crvenom bojom,

kod trsova koji ne pokazuju nove simptome zaraze kolac je obojan crvenom i žutom bojom, dok je kod onih koji su novo zaraženi kolac obojan žutom bojom. Nakon obilježavanja prebrojani su trsovi svih promatranih kategorija kako bi se utvrdilo trenutno stanje vinograda i rezultati saniranja.

#### 4. Rezultati i rasprava

U tablici 1. prikazana je evidencija oboljelih trsova u nasadu A iz koje je vidljiva prisutnost zaraze s *Agrobacterium vitis* na 180 trsova, dok je u Tablici 2. prikazana prisutnost zaraze na čak 320 trsova.

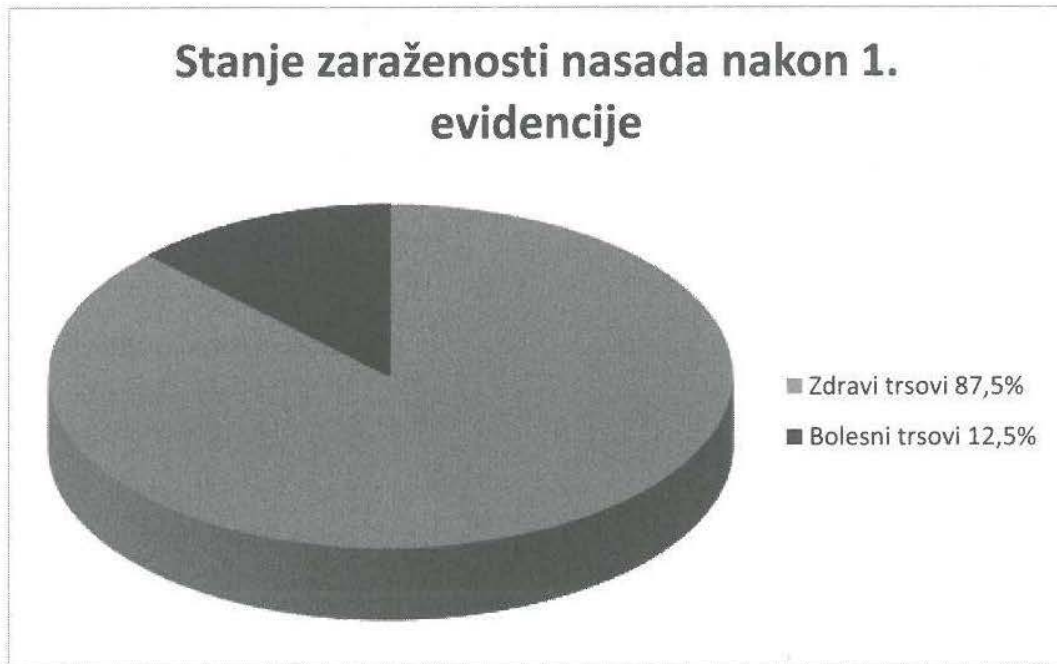
Br. reda	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
R.br. trsa	11	7	28	3	31	1	3	13	7	7	10	19	14	30
Uk.zar.trsova u redu	7	11	7	30	15	19	22	15	13	7	8	15	10	1

Tablica 1. Prikaz zaraženih trsova u nasadu A

Br. reda	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
R.br. trsa	42	8	6	6	1	12	20	1	25	62	4	2	2	70
Uk.zar.trsova u redu	8	10	22	17	23	14	7	11	19	11	14	15	15	17
Sveukupno zaraženih trsova = 320														

Tablica 2. Prikaz zaraženih trsova u nasadu B

Prilikom prve evidencije zabilježeno je 500 zaraženih trsova od ukupno 4000, što čini postotak zaraženosti od 12,5% (Grafikon 1). Nakon odstranjivanja odrvenjelih izraslina, koje predstavljaju tkivo tumora vinove loze iz prethodne vegetacijske godine, i tretiranja zaraženih trsova otopinama sumpora te mješavinom sumpora i bakra primjetno je usporavanje razvitka tumornih izraslina u periodu u kojemu su se već trebale razviti nove tumorne tvorbe.



Grafikon 1. Stanje zaraze (%) nakon prve evidencije

Prilikom druge evidencije i kontrole saniranih trsova zabilježena je pojava 250 novo zaraženih trsova, a od 500 saniranih trsova 47 nakon sanacije ne pokazuju razvoj novih tumornih izraslina dok se na 453 trsa razvijaju nove tumornih izrasline usprkos provedenoj sanaciji.



Grafikon 2. Stanje zaraze (%) nakon druge evidencije

Iz Grafikona 2. vidljiv je porast zaraženih trsova za 6,25% pri čemu je ukupna zaraženost nasada povećana na 18,75%.



Grafikon 3. Učinak mjera sanacije

Grafikonom 3. prikazani su rezultati učinka sanacijskih mjera na 500 promatranih zaraženih trsova iz čega je vidljivo da 9,4% (47) tretiranih trsova ne pokazuje nove simptome zaraze dok 91,6% (453 trsa) pokazuje vidljive simptome zaraze odnosno novo zaraženo tkivo. Nakon sanacijskih mjera vizualnom procjenom pojave karakterističnih simptoma na 453 zaražena trsa više od 50% trsova pokazuje smanjeni porast tumornih izraslina uz malobrojne iznimke koje usprkos sanaciji ne pokazuju znakove smanjenja zaraze. Tijekom istraživanja nije provedeno detaljnije praćenje uroda grožđa obzirom je količina uroda ovisna i od ostalim čimbenicima uzgoja, iako na pokusnim trsovima vizualno nije primjetan manjak uroda grožđa bolesnih trsova u usporedbi sa zdravim.

## 5. Zaključak

*Agrobacterium vitis* predstavlja ekonomski značajnu bakterijsku bolest vinove loze, osobito zbog nemogućnosti potpunog izlječenja oboljelih trsova. Evidentiranjem i praćenjem zaraženosti s *A. vitis* na sorti Zweigelt potvrđeno je da se bolest ne može u potpunosti izliječiti, ali se provedbom primijenjenih sanacijskih mjera može donekle držati pod kontrolom. Mehaničko odstranjivanje tumornih izraslina te premazivanje inficiranih mjesta bakrom i sumporom rezultiralo je smanjenom pojavom novih simptoma bolesti kod većine trsova, dok na nekolicini saniranih trsova nije niti uočena pojava novih simptoma bolesti. Tijekom istraživanja utvrđena je i pojava 250 novo zaraženih trsova koji nisu pokazivali simptome zaraze prilikom prvog pregleda i evidentiranja, što potvrđuje da skriveno razdoblje inkubacije kod ove bakterioze traje razmjerno dugo pri čemu se simptomi mogu pojaviti i nekoliko mjeseci nakon zaraze. Pravilnim i redovnim provođenjem ovakvih mjera sanacije mogu se smanjiti simptomi zaraze i usporiti širenje bolesti na zdrave dijelove biljnog tkiva te tako produžiti životni vijek zaraženog trsa.

## 6. Literatura

- [1] Anderson, A.R., Moore, L.W. (1979): Host specificity in the genus *agrobacterium*. *Phytopathology* 69, 320-323.
- [2] Burr, T.J., Katz, B.H., Bishop, A.L., Meyers, C.A., Mittak, V.L. (1988): Effect of shoot age and tip culture propagation of grapes on systemic infestations by *Agrobacterium tumefaciens* biovar 3. *American Journal of Enology and Viticulture* 39, 67-70.
- [3] Burr, T.J., Otten, L. (1999): Crown gall of grape: biology and disease anagement. *Annual Review of Phytopathology* 37, 53-80.
- [4] Kerr, A., Panagopoulos, C.G. (1977): Biotypes of *Agrobacterium radiobacter* var. *tumefaciens* and their biological control. *Phytopathologische Zeitschrift* 90, 172-179.
- [5] Kuzmanović S. N. (2013): Identifikacija, karakterizacija i genetički diverzitet sojeva *Agrobacterium* spp., prouzrokovala bakterijskog raka vinove loze; Doktorska disertacija; Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- [6] Lehoczky, J. (1968): Spread of *Agrobacterium tumefaciens* in the vessels of the grapevine after natural infection. *Phytopathologische Zeitschrift* 63, 239-246.
- [7] Maceljiski, M., Cvjetković, B., Ostojić, Z., Barić, B. (2006): Štetočinje vinove loze, Zrinski d.d. Čakovec; Biblioteka Znanstveno popularna djela ; knj. 54
- [8] Panagopoulos, C.G., Psallidas, P.G. (1973): Characteristics of Greek isolates of *Agrobacterium tumefaciens* (E.F. Smith & Townsend) Conn. *Journal of Applied Bacteriology* 36, 233-240.
- [9] Schroth, M.N., McCain, A.H., Foott, J.H., Huisman, O.C. (1988): Reduction in yield and vigor of grapevine caused by crown gall disease. *Plant Disease* 72, 241-246.
- [10] Süle, S (1978): Biotypes of *Agrobacterium tumefaciens* in Hungary. *Journal of Applied Bacteriology* 44, 207-213.
- [11] Tarbah, F.A., Goodman, R.N. (1987): Systemic spread of *Agrobacterium tumefaciens* biovar 3 in the vascular system of grapes. *Phytopathology* 77, 915-920.