

Društvo za varstvo rastlin Slovenije
Ljubljana

Plant Protection Society of Slovenia
Ljubljana

**ZBORNIK
PREDAVANJ IN REFERATOV**

9. SLOVENSKEGA POSVETOVANJA O VARSTVU RASTLIN
NOVA GORICA, 4.-5. MAREC 2009

LECTURES AND PAPERS

PRESENTED AT THE 9TH SLOVENIAN CONFERENCE ON
PLANT PROTECTION
NOVA GORICA, MARCH 4-5 2009

LJUBLJANA, 2009

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

632(082)

SLOVENSKO posvetovanje o varstvu rastlin (9 ; 2009 ; Nova Gorica)

Zbornik predavanj in referatov 9. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Nova Gorica, 4.-5. marec 2009 = Lectures and papers presented at the 9th Slovenian Conference on Plant Protection, Nova Gorica, March 4-5 2009 / [organizator] Društvo za varstvo rastlin Slovenije ; [soorganizatorji Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije ... [et al.] ; urednik Jože Maček]. - Ljubljana : Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2009

ISBN 978-961-90950-7-2

1. Maček, Jože, 1929- 2. Društvo za varstvo rastlin Slovenije 3. Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije

247305984

Pokrovitelji in soorganizatorji:

Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS – Fitosanitarna uprava

Soorganizatorji:

Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije
Inšpektorat RS za kmetijstvo, gozdarstvo in hrano
Javna agencija za raziskovalno dejavnost RS

Sponzorji:

Syngenta Agro d.o.o., Ljubljana	BASF Slovenija d.o.o., Ljubljana
Bayer CropScience d.o.o.	Metrob d.o.o., Celje
Pinus TKI Rače d.d., Rače	Mestna občina Nova Gorica
Karsia Dutovlje d.o.o. in DOW AgroSciences	Hit d.d. Nova Gorica

Posvetovanje so podprli:

Cinkarna, Metalurško kemična industrija Celje d.d.	Jurana d.o.o.
Trsničarska zadruga Vrhpolje	Omega d.o.o. in Applied Biosystems
Mlinotest d.d., Ajdovščina	

Donatorji:

Kambič laboratorijska oprema, Anton Kambič s.p.	Vinska klet Goriška Brda
Semič	Agroind Vinska klet Vipava 1894
Remas d.o.o., Ljubljana	Vinakras Sežana z.o.o.
Rossad d.o.o.	Chemtura
Agraria Dornberk d.o.o.	Občina Šempeter Vrtojba
KZ Tolmin	Občina Brda
Zavarovalnica Triglav d.d.	Občina Komen
Turistična zveza Nova Gorica	Občina Sežana
Vinakoper d.o.o.	

Organizacijski odbor:

Predsednika: prof. dr. Stanislav TRDAN, univ. dipl. inž. agr.
dr. Ivan ŽEŽLINA, univ. dipl. inž. agr.

Člani: Aleksander BOBNAR, oec.	mag. Nataša MEHLE, univ. dipl. biol.
Renata FRAS PETERLIN, univ. dipl. inž. agr.	asist. dr. Matej VIDRIH, univ. dipl. inž. agr.
Vasja HAFNER, univ. dipl. inž. agr.	asist. Katarina KOS, univ. dipl. inž. agr.
Branko CARLEVARIS, dipl. inž. agr. in hort.	Žiga LAZNIK, univ. dipl. inž. agr.
mag. Gabrijel SELJAK, univ. dipl. inž. agr.	mag. Helena ROJHT, univ. dipl. inž. agr.
mag. Mateja BLAŽIČ, univ. dipl. inž. agr.	Jaka RUPNIK, inž. les.
Mojca ROT, univ. dipl. inž. agr.	

Programski odbor:

akad. zasl. prof. ddr. Jože MAČEK, univ. dipl. inž. agr., univ. dipl. oec.
doc. dr. Andrej SIMONČIČ, univ. dipl. inž. agr.
prof. dr. Stanislav TRDAN, univ. dipl. inž. agr.
dr. Sebastjan RADIŠEK, univ. dipl. inž. agr.
prof. dr. Mario LEŠNIK, univ. dipl. inž. agr.
prof. dr. Maja RAVNIKAR, univ. dipl. biol.

Organizator:

Društvo za varstvo rastlin Slovenije, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana; el.pošta: dvors@bf.uni-lj.si;
<http://dvors.bf.uni-lj.si>

Urednik: akad. zasl. prof. ddr. Jože MAČEK

Tehnična urednika in oblikovalca: prof. dr. Stanislav TRDAN in Jaka RUPNIK

Tisk: ABO grafika, Ob železnici 16, 1000 Ljubljana

Naklada: 300 izvodov

Vsebina

Uvodni referati

Jernej DROFENIK Vpliv nove predlagane zakonodaje na področju registracije fitofarmacevtskih sredstev	1
Doroteja OZIMIČ, Katarina KRESNIK, Dejan RITUPER Zastopanost fitofarmacevtskih sredstev v kontrolirani integrirani pridelavi	3
Lea MILEVOJ Prof. dr. Franc JANEŽIČ – utemeljitelj varstva rastlin v Sloveniji	9

Fitofarmacevtska sredstva

Stanislava FIŠER, Lea MILEVOJ, Majda ČERNIČ ISTENIČ Uporaba fitofarmacevtskih sredstev pri ljubiteljskem pridelovanju vrtnin	17
Boris KOVAČ Kemijska tveganja izdelkov iz žit; ostanki fitofarmacevtskih sredstev in mikotoksini	25
Andrej SIMONČIČ, Peter KOZMUS, Vojko ŠKERLAVAJ, Špela MODIC, Roman MAVEC, Matej STOPAR, Helena BAŠA ČESNIK, Špela VELIKONJA BOLTA, Ana GREGORČIČ Vpliv različnih tehnologij varstva jablan pred boleznimi in škodljivci na ostanke fitofarmacevtskih sredstev v jabolkah	31
Andrea BASSI, J. L. RISON, J. A. WILES Klorantranilprol (DPX-E2Y45, Rynaxypyr [®] , Coragen [®]), nov diamidni insekticid za zatiranje jabolčnega zavijača (<i>Cydia pomonella</i>), koloradskega hrošča (<i>Leptinotarsa decemlineata</i>) in križastega grozdnega sukača (<i>Lobesia botrana</i>)	39
Mario LEŠNIK, Vesna GABERŠEK, Vili KURNIK Perspektive uporabe fungicidov na podlagi bakra	47
Andrej SIMONČIČ, Janez SUŠIN, Helena BAŠA-ČESNIK, Vida ŽNIDARŠIČ PONGRAC, Špela VELIKONJA BOLTA, Ana GREGORČIČ Preučevanje vpliva varstva hmelja pred boleznimi in škodljivci na ostanke fitofarmacevtskih sredstev v tleh in podzemni vodi v Sloveniji	59
Franc JURŠA, Barbara FAŠNIK Rezultati preizkušanj novega akaricida Milbeknock na jablanah in na hmelju	65

Zakonodaja in nadzor škodljivih organizmov

Vlasta KNAPIČ, Katarina GROZNIK, Anita BENKO BELOGLAVEC, Simona MAVSAR, Mirjam ČELAN Boljši predpisi na področju varstva rastlin	71
Vlasta KNAPIČ, Simona MAVSAR, Mojca CELAR Vnos organizmov v raziskovalne namene v Sloveniji v letih 1999-2008	79
Milan LUKMAN, Joži JERMAN CVELBAR Nadzor izvajanja ukrepov za preprečevanje širjenja koruznega hrošča	87
Radovan LIČEN, Katja ŠNAJDER KOSI, Andrej POTOČNIK, Anita BENKO BELOGLAVEC, Maja RAVNIKAR, Nataša MEHLE Predstavitev izvajanja nadzora zdravstvenega stanja zelenjadnic in rezultatov vzorčenj na zastopanost virusov	93
Andrej POTOČNIK, Joži Jerman CVELBAR, Gregor UREK, Saša ŠIRCA Posebni nadzor krompirjevih ogorčic <i>Globodera rostochiensis</i> in <i>G. pallida</i> in fitosanitarni ukrepi	99
Joži JERMAN CVELBAR, Andrej POTOČNIK, Milan LUKMAN, Anita BENKO BELOGLAVEC, Bojan BERDEN, Radovan LIČEN, Primož PAJK Pridelava sadik rastlin, gostiteljic hruševega ožiga, na nevtralnih območjih	105
Erika OREŠEK, Gabrijel SELJAK Ugotavljanje pojava trsnih rumenic v Sloveniji v letu 2008	111
Anita BENKO BELOGLAVEC, Zdenko GRANDO, Darja ŠTOLFA, Milan LUKMAN, Radovan LIČEN Rezultati izvajanja ukrepov za zatiranje zlate trsne rumenice na Koprskem	123

Varstvo poljščin in vrtnin

Anka POŽENEL, Mojca ROT Izkušnje pri biotičnem zatiranju poljskega majskega hrošča (<i>Melolontha melolontha</i> L.) z glivo <i>Beauveria brongniartii</i> (Sacc.) Petch, 1924	129
Matej VIDRIH, Urška SLIVNIK, Žiga LAZNIK, Stanislav TRDAN Načini varovanja kmetijskih zemljiščih pred parkljasto divjadjo in njena škodljivost v Šaleški dolini	135
Helena ROJHT, Katarina KOS, Stanislav TRDAN Preučevanje načinov delovanja IZBRANIH rastlinskih izvlečkov na koloradskega hrošča (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> [Say]) na jajčevcu	145
Stanislav TRDAN, Helena ROJHT, Nevenka VALIČ, Irena VOVK, Mitja MARTELANC, Breda SIMONOVSKA, Rajko VIDRIH, Dragan ŽNIDARČIČ Naravna odpornost zelja na napad tobakovega resarja (<i>Thrips tabaci</i> Lindeman, Thysanoptera, Thripidae) in pisane stenice (<i>Eurydema ventrale</i> Kolenati, Heteroptera, Pentatomidae)	159
Iris ŠKERBOT, Lea MILEVOJ, Stanislav TRDAN Spremljanje pojava škodljivcev in koristnih organizmov na paradižniku, papriki in kumarah v zavarovanih prostorih	167
Katarina KOS, Helena ROJHT, Stanislav TRDAN Parazitoida <i>Lysiphlebus fabarum</i> in <i>Diaeretiella rapae</i> v Sloveniji v letih 2006 in 2008	175
Darja KOCJAN AČKO, Igor ŠANTAVEC Fitosanitarni pomen kolobarja na poljedelsko-živinorejskih kmetijah	181
Mario LEŠNIK, Manfred JAKOP, Franc BAVEC Možnosti zatiranja glive <i>Pseudoperonospora cubensis</i> v posevkih oljnih buč v Sloveniji	187
Meta URBANČIČ ZEMLJIČ, Metka ŽERJAV Pregled desetletnih poljskih poskusov z razkuževanjem semena žit	191

Nematologija

Barbara GERIČ STARE, Saša ŠIRCA, Polona STRAJNAR, Gregor UREK Molekularna diagnostika rastlinsko-parazitskih ogorčic v Sloveniji	197
Žiga LAZNIK, Tímea TÓTH, Tamás LAKATOS, Stanislav TRDAN Prvi poljski poskus uporabe entomopatogenih ogorčic v Sloveniji	209

Fitobakteriologija

Manca PIRC, Tanja DREO, Maja RAVNIKAR Razvoj metode PCR v realnem času za določanje bakterije <i>Erwinia amylovora</i> in njena uporaba v diagnostiki	215
Jana SKUBIC, Maja RAVNIKAR, Gabrijel SELJAK, Tanja DREO Laboratorijske metode določanja bakterije <i>Xylella fastidiosa</i> v vzorcih vinske trte	219
Igor ZIDARIČ Spremljanje bakterij iz rodu <i>Agrobacterium</i> na vinski trti v letih 2006 in 2007	225
Matej ŠUŠTARŠIČ, Anita SOLAR, Maja RAVNIKAR, Lidija MATIČIČ, Gregor LIPOVŠEK, Franci ŠTAMPAR, Tanja DREO Ocenjevanje občutljivosti plodov oreha na orehov ožig z umetno inokulacijo	231

Fitoplazmologija

Petra NIKOLIČ, Jana BOBEN, Matjaž HREN, Maja RAVNIKAR, Marina DERMASTIA Razvoj diagnostične metode za določanje fitoplazme Aster yellows na vinski trti s PCR v realnem času	237
Nikita FAJT, Gabrijel SELJAK, Matjaž PRINČIČ, Erika KOMEL, Robert VEBERIČ, Nataša MEHLE, Jana BOBEN, Tanja DREO, Maja RAVNIKAR, Barbara AMBROŽIČ-TURK Zagotavljanje zdravega izhodišnega materiala koščičarjev z vzgojo matičnih dreves v mrežniku	243
Mojca LEŠNIK, Maja RAVNIKAR, Nataša MEHLE, Jernej BRZIN, Mario LEŠNIK Obseg prenosa fitoplazme AP (<i>Candidatus phytoplasma mali</i>) v odvisnosti od načina cepljenja	249
Mojca LEŠNIK, Ema PAVLIČ NIKOLIČ, Mario LEŠNIK Rezultati spremljanja pojava fitoplazem AP (<i>Candidatus phytoplasma mali</i>) in PD (<i>Candidatus phytoplasma pyri</i>) v Sloveniji	255

Fitomikologija

- Tjaša GRIL, Franci CELAR, Branka JAVORNIK, Jernej JAKŠE** Znotrajvrstna raznolikost fitopatogene glive *Monilinia laxa* in razvoj specifične detekcijske metode 261
- Maja MIKULIČ PETKOVŠEK, Franci ŠTAMPAR, Robert VEBERIČ** Fenolne snovi kot odziv jablane na okužbo z jablanovim škrlupom (*Venturia inaequalis*) 267
- Bogdan KORIČ, Željko TOMIČ, Mladen ŠIMALA, Tatjana MASTEN MILEK** Ramularijska pegavost na ječmenu na Hrvaškem 273

Fitovirologija

- Nataša MEHLE, Magda TUŠEK ŽNIDARIČ, Maja RAVNIKAR** Virus ovenelosti boba 1 (BBWV1) – nov gospodarsko pomemben virus paprik v Sloveniji 281

Entomologija

- Špela MODIC, Irena MAVRIČ PLEŠKO, Meta URBANČIČ ZEMLJIČ, Peter KOZMUS, Gregor UREK** Opazovanje in identifikacija pravih listnih uši (Sternorrhyncha: Aphidoidea) na gojenih rastlinah v Sloveniji 285
- Karmen RODIČ, Gabrijel SELJAK, Andreja PETERLIN, Domen BAJEC, Smiljana TOMŠE** Škržatki, ulovljeni v vinogradih JV Slovenije v letih 2007 in 2008 293

Herbologija in varstvo rastlin pred pleveli

- Mario LEŠNIK** Nove plevelne vrste v Sloveniji – ocena dinamike prehoda iz ruderalnih v plevelne združbe njiv in trajnih nasadov 299
- Rajko BERNIK, Filip VUČAJNK, Aleš ZVER** Zatiranje plevela z ožiganjem 309
- Silvo ŽVEPLAN, Magda RAK CIZEJ, Gregor LESKOŠEK** Herbicidi v prvoletnih nasadih hmelja in v ukoreniščih 317
- Robert LESKOŠEK, Andrej SIMONČIČ, Mario LEŠNIK, Stanislav VAJS, Silvo ŽVEPLAN** Preučevanje učinkovitosti herbicidov za zatiranje pelinolistne ambrozije (*Ambrosia artemisiifolia* L.) v Sloveniji 323
- Boštjan MATKO, Jože MIKLAVC, Miro MEŠL, Mario LEŠNIK, Stanislav VAJS** Rezultati preizkušanja herbicidov proti plevelom v soji 329

Varstvo sadnega drevja

- Gustav MATIS** Analiza zastopanosti posameznih skupin fitofarmaceutskih sredstev v škropilnih programih varstva jablanovih nasadov v letih 2007 in 2008 335
- Gustav MATIS** Strategija zatiranja jabolčnega zavijača (*Cydia pomonella*) v razmerah naraščajoče odpornosti 339
- Jože MIKLAVC, Miro MEŠL, Boštjan MATKO, Anita SOLAR** Spremljanje sezonske dinamike orehove muhe (*Rhagoletis completa* Cresson) v letu 2008 z rumenimi lepljivimi ploščami in rezultati preizkušanja insekticidov 343
- Aleš GROBIN** Bellis – izkušnje uporabe iz prakse 349

Varstvo vinske trte

- Miro MEŠL, Jože MIKLAVC, Boštjan MATKO** Rezultati preizkušanja insekticidov proti ameriškemu škržatku (*Scaphoideus titanus* Ball) v letu 2008 353
- Marko KRAMER, Damjan FINŠGAR** Zagotavljanje trajnostne rabe fitofarmaceutskih sredstev za zatiranje pepelovke ali oidija vinske trte (*Uncinula necator*) 357

Splošna sekcija

- Domen BAJEC, Andreja PETERLIN, Karmen RODIČ, Jolanda PERSOLJA** Prikaz in analiza izrednih vremenskih pojavov na območju JV Slovenije z uporabo tehnologije GIS 363
- Radovan LIČEN, Joži JERMAN CVELBAR, Anita BENKO BELOGLAVEC** Aplikacija FSI - Pregled kot podpora delu fitosanitarnega inšpektorja v okviru celovitega informacijskega sistema zdravstvenega varstva rastlin 367

Posterji

- Dušanka INDIČ Slavica VUKOVIČ, Mila GRAHOVAC, Vojislava BURSIC, Dragana ŠUNJKA** Težave pri zatiranju listnih uši v jablanovih sadovnjakih v letu 2007 373
- Peter KOZMUS, Špela MODIC** Molekularna identifikacija pravih listnih uši (Sternorrhyncha: Aphidoidea) na podlagi nukleotidne analize regije citokrom oksidaza I 379
- Tatjana MASTEN MILEK, Mladen ŠIMALA, Bogdan KORIĆ** Kaparji (Hemiptera: Coccoidea) na sadju iz uvoza na Hrvaškem 385
- Mladen ŠIMALA, Tatjana MASTEN MILEK, Bogdan KORIĆ** Vrste ščitkarjev (Hemiptera: Aleyrodidae), ugotovljene na uvoženih okrasnih rastlinah na Hrvaškem v obdobju 2005-2008 389
- Mario BJELIŠ** Zatiranje oljčne muhe – *Bactrocera oleae* Rossi (Diptera, Tephritidae) z masovnim lovljenjem in škropljenjem s prehranskimi vabami v Dalmaciji 397
- Mario BJELIŠ, Dražen RADUNIĆ** Zatiranje oljčnega molja – *Prays oleae* Bernhard (Lepidoptera, Hyponomeutidae) v obdobju cvetenja z insekticidi 403
- Mojca REMIC, Lea MILEVOJ, Helena ŠIRCELJ** Povezava med pojavom navadne pršice (*Tetranychus urticae* Koch) na krizantemah *Chrysanthemum* 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' in vsebnostjo fenolov in pigmentov v listih 409
- Helena ROJHT, Stanislav TRDAN** Vrednotenje repelentnih lastnosti izbranih rastlinskih izvlečkov z novo računalniško aplikacijo 419
- Meta URBANČIČ ZEMLJIČ, Erich JÖRG, Paulo RACCA, Gregor UREK, Stanislav TRDAN** Ugotavljanje odpornosti koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) v Sloveniji na izbrane insekticide 425
- Domen BAJEC, Karmen RODIČ, Andreja PETERLIN** Širok spekter gostiteljskih rastlin sadnega listnega duplinarja (*Leucoptera malifoliella* [O. Costa]) 431
- Matej VIDRIH, Žiga LAZNIK, Stanislav TRDAN** Varovanje kmetijskih zemljišč pred škodo po parkljasti divjadi z elektroograjami 435
- Katarina KOS, Helena ROJHT, Stanislav TRDAN** Preučevanje fungicidnega delovanja štirih naravnih snovi na paradižnikovo plesen (*Phytophthora infestans*) na dveh hibridih determinantnega paradižnika 441
- Ana LIKOZAR, Franci ŠTAMPAR, Maja MIKULIČ-PETKOVŠEK, Robert VEBERIČ** Aktivnost encimov fenilpropanoidne poti, kot odziv tkiva na okužbo z jablanovim škrlupom (*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Wint.) 447
- Lucija LESKOVŠEK, Sebastjan RADIŠEK, Nataša FERANT, Andreja ČERENAK, Vlasta KNAPIČ** Prve brezviroidne rastline hmelja (*Humulus lupulus* L.) v Sloveniji 453
- Nina PREZELJ, Duška DELIČ, Ion GUTIERREZ AGUIRRE, Magda TUŠEK ŽNIDARIČ, Nataša MEHLE, Maja RAVNIKAR** Preživetje in infektivnost virusa mozaika pepina (PepMV) v vodnem okolju 457
- Ema PAVLIČ NIKOLIĆ, Gabrijel SELJAK** Težave z bakterijo *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* pri pridelavi sadilnega materiala pečkatnega sadja 461
- Sara GODENA, Ivana DMINIĆ, Edyta ĐERMIĆ, Anita Silvana ILAK-PERŠURIĆ** Pojav oljkovega raka zaradi okužbe z bakterijo *Pseudomonas savastanoi* na severozahodu polotoka Istra 467
- Tina MODIC, Ludvik ROZMAN** Fitotoksičnost različnih herbicidov na domač genski material koruze in njihova učinkovitost 473
- Gabriella KAZINCZI, József HORVÁTH, András TAKÁCS** Invazivne rastline, umetni ali naravni gostitelji gospodarsko pomembnih virusov 479

Anita BENKO BELOGLAVEC, Radovan LIČEN, Gabrijel SELJAK, Katja ŠNAJDER KOSI, Zdenko GRANDO, Mojca LEŠNIK, Ema PAVLIČ NIKOLIČ Ugotovljeni novi škodljivi organizmi v letu 2008 pri premeščanju rastlin iz držav članic Evropske unije ali med pridelavo v Sloveniji	483
Franci CELAR, Nevenka VALIČ, Jolanda PERSOLJA Preliminarni rezultati biotičnega zatiranja ogrcev poljskega majskega hrošča (<i>Melolontha melolontha</i> L.) z entomopatogeno glivo <i>Beauveria brongniartii</i> (Sacc.) Petch v občinah Idrija in Logatec	489
Kazalo avtorjev	495

Contents

Plenary lectures

Jernej DROFENIK Influence of new legislation in the field of pesticides registration	1
Doroteja OZIMIČ, Katarina KRESNIK, Dejan RITUPER Representation of phytopharmaceuticals in controlled integrated crop production	3
Lea MILEVOJ Prof. dr. Franc JANEŽIČ – the founder of plant protection in Slovenia	9

Plant protection products

Stanislava FIŠER, Lea MILEVOJ, Majda ČERNIČ ISTENIČ The use of plant protection products in the amateur gardening	17
Boris KOVAČ Chemical hazards of cereal products; residues of pesticides and mycotoxins	25
Andrej SIMONČIČ, Peter KOZMUS, Vojko ŠKERLAVAJ, Špela MODIČ, Roman MAVEC, Matej STOPAR, Helena BAŠA ČESNIK, Špela VELIKONJA BOLTA, Ana GREGORČIČ The influence of different plant protection technologies on pests and diseases in orchards and their residues in fruits	31
Andrea BASSI, J. L. RISON, J. A. WILES Chlorantraniliprole (DPX-E2Y45, Rynaxypyr [®] , Coragen [®]), a new diamide insecticide for control of codling moth (<i>Cydia pomonella</i>), Colorado potato beetle (<i>Leptinotarsa decemlineata</i>) and European grapevine moth (<i>Lobesia botrana</i>)	39
Mario LEŠNIK, Vesna GABERŠEK, Vili KURNIK The use of copper-based fungicides and their prospects for the future	47
Andrej SIMONČIČ, Janez SUŠIN, Helena BAŠA-ČESNIK, Vida ŽNIDARŠIČ PONGRAC, Špela VELIKONJA BOLTA, Ana GREGORČIČ The influence of hop protection from pests and diseases on the occurrence of plant protection product residues in soils and groundwater in Slovenia	59
Franc JURŠA, Barbara FAŠNIK Results of experiments with new akaricide Milbeknock on apples and in hopes	65

Legislation and supervision of harmful organisms

Vlasta KNAPIČ, Katarina GROZNIK, Anita BENKO BELOGLAVEC, Simona MAVSAR, Mirjam ČELAN Better regulation in the plant health sector	71
Vlasta KNAPIČ, Simona MAVSAR, Mojca CELAR Introduction of organisms for scientific purposes in Slovenia in the period 1999-2008	79
Milan LUKMAN, Joži JERMAN CVELBAR Supervision of implementation of measures to prevent the spread of western corn rootworm	87
Radovan LIČEN, Katja ŠNAJDER KOSI, Andrej POTOČNIK, Anita BENKO BELOGLAVEC, Maja RAVNIKAR, Nataša MEHLE Presentation of plant health checks of vegetables and of the results of sampling on the presence of viruses	93
Andrej POTOČNIK, Joži Jerman CVELBAR, Gregor UREK, Saša ŠIRCA Special survey of potato cyst nematodes <i>Globodera rostochiensis</i> and <i>G. pallida</i> and phytosanitary measures	99
Joži JERMAN CVELBAR, Andrej POTOČNIK, Milan LUKMAN, Anita BENKO BELOGLAVEC, Bojan BERDEN, Radovan LIČEN, Primož PAJK Production of host plants of fire blight intended for planting in buffer zones	105
Erika OREŠEK, Gabrijel SELJAK Survey of grapevine yellows in Slovenia in 2008	111
Anita BENKO BELOGLAVEC, Zdenko GRANDO, Darja ŠTOLFA, Milan LUKMAN, Radovan LIČEN Results of implemented measures for suppression of Grapevine flavescence dorée phytoplasma	123

Protection of field crops and vegetables

Anka POŽENEL, Mojca ROT Experiences in the biological control of common cockchafer (<i>Melolontha melolontha</i> L.) using <i>Beauveria brongniartii</i> (Sacc.) Petch, 1924	129
--	-----

Matej VIDRIH, Urška SLIVNIK, Žiga LAZNIK, Stanislav TRDAN Protection measures on agricultural land against big game and damage they cause in Šaleška valley	135
Helena ROJHT, Katarina KOS, Stanislav TRDAN Research on the modes of action of some plant extracts for controlling Colorado potato beetle (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> [Say]) on eggplant	145
Stanislav TRDAN, Helena ROJHT, Nevenka VALIČ, Irena VOVK, Mitja MARTELANC, Breda SIMONOVSKA, Rajko VIDRIH, Dragan ŽNIDARČIČ Natural resistance of cabbage against onion thrips (<i>Thrips tabaci</i> Lindeman, Thysanoptera, Thripidae) and cabbage stink bug (<i>Eurydema ventrale</i> Kolenati, Heteroptera, Pentatomidae) attack	159
Iris ŠKERBOT, Lea MILEVOJ, Stanislav TRDAN Survey of pests and beneficial organisms on tomato, pepper and cucumber produced in greenhouses	167
Katarina KOS, Helena ROJHT, Stanislav TRDAN Parasitoids <i>Lysiphlebus fabarum</i> and <i>Diaeretiella rapae</i> in Slovenia in 2006 and 2008	175
Darja KOCJAN AČKO, Igor ŠANTAVEC Phytosanitary importance of crop rotation on arable and livestock farms	181
MARIO LEŠNIK, MANFRED JAKOP, FRANC BAVEC Options for oil pumpkin downy mildew (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>) control in Slovenia	187
Meta URBANČIČ ZEMLJIČ, Metka ŽERJAV Cereal seed treatment – comments on ten years of field trials	191

Nematology

Barbara GERIČ STARE, Saša ŠIRCA, Polona STRAJNAR, Gregor UREK Molecular diagnostics of plant-parasitic nematodes in Slovenia	197
Žiga LAZNIK, Tímea TÓTH, Tamás LAKATOS, Stanislav TRDAN First field experiment with entomopathogenic nematodes in Slovenia	209

Phytobacteriology

Manca PIRC, Tanja DREO, Maja RAVNIKAR Development of real-time PCR for detection of <i>Erwinia amylovora</i> and its use in diagnostics	215
Jana SKUBIC, Maja RAVNIKAR, Gabrijel SELJAK, Tanja DREO Methods for detecting <i>Xylella fastidiosa</i> in vine samples	219
Igor ZIDARIČ Monitoring of bacteria of the genus <i>Agrobacterium</i> on grapevine in 2006 and 2007	225
Matej ŠUŠTARŠIČ, Anita SOLAR, Maja RAVNIKAR, Lidija MATIČIČ, Gregor LIPOVŠEK, Franci ŠTAMPAR, Tanja DREO Assessing susceptibility of walnut fruit to walnut blight using artificial inoculations	231

Phytoplasmology

Petra NIKOLIČ, Jana BOBEN, Matjaž HREN, Maja RAVNIKAR, Marina DERMASTIA Development of diagnostic method for Aster yellows phytoplasma detection on grapevine with real-time PCR	237
Nikita FAJT, Gabrijel SELJAK, Matjaž PRINČIČ, Erika KOMEL, Robert VEBERIČ, Nataša MEHLE, Jana BOBEN, Tanja DREO, Maja RAVNIKAR, Barbara AMBROŽIČ-TURK Assurance of healthy propagating material of stone fruits by cultivating mother trees in insect-proof net-house	243
Mojca LEŠNIK, Maja RAVNIKAR, Nataša MEHLE, Jernej BRZIN, Mario LEŠNIK Transmission of AP phytoplasma (<i>Candidatus phytoplasma mali</i>) in relation to the method of propagation	249
Mojca LEŠNIK, Ema PAVLIČ NIKOLIČ, Mario LEŠNIK Results of surveillance of occurrence of AP (<i>Candidatus phytoplasma mali</i>) in PD (<i>Candidatus phytoplasma pyri</i>) phytoplasma in Slovenia	255

Phytopathology

- Tjaša GRIL, Franci CELAR, Branka JAVORNIK, Jernej JAKŠE** Intraspecific variability of the plant pathogenic fungus *Monilinia laxa* and the development of a reliable diagnostic method 261
- Maja MIKULIČ PETKOVŠEK, Franci ŠTAMPAR, Robert VEBERIČ** Phenolic compounds as response to apple scab (*Venturia inaequalis*) infection 267
- Bogdan KORIĆ, Željko TOMIĆ, Mladen ŠIMALA, Tatjana MASTEN MILEK** Ramularia leaf spot on barley in the Republic of Croatia 273

Phytovirology

- Nataša MEHLE, Magda TUŠEK ŽNIDARIČ, Maja RAVNIKAR** Broad bean wilt virus 1 (BBWV 1) – the new economically important virus of pepper in Slovenia 281

Entomology

- Špela MODIČ, Irena MAVRIČ PLEŠKO, Meta URBANČIČ ZEMLJIČ, Peter KOZMUS, Gregor UREK** Monitoring and identification of aphids (Sternorrhyncha: Aphidoidea) on cultivated plants in Slovenia 285
- Karmen RODIČ, Gabrijel SELJAK, Andreja PETERLIN, Domen BAJEC, Smiljana TOMŠE** Leaf- and planthoppers caught in vineyards of southeastern Slovenia in 2007 and 2008 293

Herbology and weed control

- Mario LEŠNIK** New weed species in Slovenia – estimation of dynamics of transition from ruderal to field crop and perennial crop weed communities 299
- Rajko BERNIK, Filip VUČAJNK, Aleš ZVER** Weed control with flaming 309
- Silvo ŽVEPLAN, Magda RAK CIZEJ, Gregor LESKOŠEK** Herbicides in the first-year hop plants and in propagation nurseries 317
- Robert LESKOŠEK, Andrej SIMONČIČ, Mario LEŠNIK, Stanislav VAJS, Silvo ŽVEPLAN** The investigation of herbicide efficacy on Common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) in Slovenia 323
- Boštjan MATKO, Jože MIKLAVC, Miro MEŠL, Mario LEŠNIK, Stanislav VAJS** Results of herbicide testing against weeds in soya bean 329

Protection of fruit crops

- Gustav MATIS** Analysis of representation of individual groups of plant protection products in spray programmes for protection of apple orchards in years 2007 and 2008 335
- Gustav MATIS** Strategy of controlling the apple borer (*Cydia pomonella*) in conditions of increased resistance 339
- Jože MIKLAVC, Miro MEŠL, Boštjan MATKO, Anita SOLAR** Research on seasonal dynamics of walnut husk fly (*Rhagoletis completa* Cresson) in 2008 using yellow sticky boards and the results of insecticides efficacy 343
- Aleš GROBIN** Bellis – practical experiences of use 349

Protection in viticulture

- Miro MEŠL, Jože MIKLAVC, Boštjan MATKO** Results of insecticides testing against leafhopper *Scaphoideus titanus* Ball in the year 2008 353
- Marko KRAMER, Damjan FINŠGAR** Providing sustainable use of plant protection products to combat grapevine powdery mildew (*Uncinula necator*) 357

General session

- Domen BAJEC, Andreja PETERLIN, Karmen RODIČ, Jolanda PERSOLJA** Tracking extreme weather events in SE Slovenia region using GIS 363
- Radovan LIČEN, Joži JERMAN CVELBAR, Anita BENKO BELOGLAVEC** Computer application (FSI-Pregled) – support to the work of a fitosanitary inspector in the context of a complete plant health information system 367

Posters

- Duška INDIĆ Slavica VUKOVIĆ, Mila GRAHOVAC, Vojislava BURSIC, Dragana ŠUNJKA** Problems of aphid control in apple orchards in 2007 373
- Peter KOZMUS, Špela MODIC** Molecular identification of aphids (Sternorrhyncha: Aphidoidea) based on nucleotide analyzes of cytochrome oxidase I region 379
- Tatjana MASTEN MILEK, Mladen ŠIMALA, Bogdan KORIĆ** The scale insects (Hemiptera: Coccoidea) of imported fruits in Croatia 385
- Mladen ŠIMALA, Tatjana MASTEN MILEK, Bogdan KORIĆ** Whitefly species (Hemiptera: Aleyrodidae) recorded on imported ornamental plants in Croatia from 2005–2008 389
- Mario BJELIŠ** Control of olive fruit fly – *Bactrocera oleae* Rossi (Diptera, Tephritidae) by mass trapping and bait sprays methods in Dalmatia 397
- Mario BJELIŠ, Dražen RADUNIĆ** Control of olive moth – *Prays oleae* Bernhard (Lepidoptera, Hyponomeutidae) flower generation by insecticide cover sprays 403
- Mojca REMIC, Lea MILEVOJ, Helena ŠIRCELJ** Connection between two spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) on *Chrysanthemum Chrysanthemum* 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' and phenolics compounds and pigments in its leaf 409
- Helena ROJHT, Stanislav TRDAN** Evaluation of repellent properties of some plant extracts using new computer application 419
- Meta URBANČIČ ZEMPLJIČ, Erich JÖRG, Paulo RACCA, Gregor UREK, Stanislav TRDAN** Research on insecticide resistance of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) in Slovenia 425
- Domen BAJEC, Karmen RODIČ, Andreja PETERLIN** Wide range of host plants of pear leaf blister moth (*Leucoptera malifoliella* [O. Costa]) 431
- Matej VIDRIH, Žiga LAZNIK, Stanislav TRDAN** Protection of agricultural land from big game damage with electric fences 435
- Katarina KOS, Helena ROJHT, Stanislav TRDAN** Research on fungicidal activity of four natural substances on tomato late blight (*Phytophthora infestans*) on two hybrids of determinant tomato 441
- Ana LIKOZAR, Franci ŠTAMPAR, Maja MIKULIČ-PETKOVŠEK, Robert VEBERIČ** Enzyme activity of phenylpropanoid pathway as a tissue response to infection with apple scab (*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Wint.) 447
- Lucija LESKOVŠEK, Sebastjan RADIŠEK, Nataša FERANT, Andreja ČERENAK, Vlasta KNAPIČ** First viroid-free hop plants (*Humulus lupulus* L.) in Slovenia 453
- Nina PREZELJ, Duška DELIĆ, Ion GUTIERREZ AGUIRRE, Magda TUŠEK ŽNIDARIČ, Nataša MEHLE, Maja RAVNIKAR** Survival and infectivity of pepino mosaic virus (PepMV) in aqueous environment 457
- Ema PAVLIČ NIKOLIĆ, Gabrijel SELJAK** Problems with bacterial canker (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) in production of pome fruit propagating material 461
- Sara GODENA, Ivana DMINIĆ, Edyta ĐERMIĆ, Anita Silvana ILAK-PERŠURIĆ** The occurrence of olive knot disease caused by *Pseudomonas savastanoi* in the northwest region of Istrian peninsula 467
- Tina MODIC, Ludvik ROZMAN** Phytotoxicity of some herbicides to domestic maize gene material and their efficacy 473
- Gabriella KAZINCZI, József HORVÁTH, András TAKÁCS** Plant invaders as artificial and natural hosts of economically important viruses 479

Anita BENKO BELOGLAVEC, Radovan LIČEN, Gabrijel SELJAK, Katja ŠNAJDER KOSI, Zdenko GRANDO, Mojca LEŠNIK, Ema PAVLIČ NIKOLIČ New pests detected on plants moved from Member States of the European Union or during the production in Slovenia in 2008	483
Franci CELAR, Nevenka VALIČ, Jolanda PERSOLJA Preliminary results on biological control of white grubs (<i>Melolontha melolontha</i> L.) with entomopathogenic fungus <i>Beauveria brongniartii</i> (Sacc.) Petch in Idrija and Logatec area	489
Index of authors	495

VPLIV NOVE PREDLAGANE ZAKONODAJE NA PODROČJU REGISTRACIJE FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV

Jernej DROFENIK¹

¹Fitosanitarna uprava RS, Ljubljana

IZVLEČEK

Tako imenovani pesticidni paket zakonodaje, ki je v zaključni fazi sprejemanja na nivoju skupnosti, vključuje; novo Uredbo o dajanju fitofarmaceutskih sredstev na trg, kot tudi Direktivo o trajnostni rabi fitofarmaceutskih sredstev. Od obeh predlaganih zakonskih okvirjev je za Slovenijo bistvenega pomena Uredba, ki za razliko od Direktive, kjer je glavna novih ukrepov že nacionalno urejena, kot so izobraževanje od uporabnikov, trgovcev, kot tudi testiranje aplikacijske tehnike do strategije za zmanjšanje uporabe fitofarmaceutskih sredstev, prinaša Uredba bistvene spremembe na področju registracije, ki bodo imele vpliv tako na postopek registracije in pogoje le te, kot tudi na končne uporabnike teh sredstev. V predstavitvi bomo predstavili ključne spremembe zakonodaje predvsem na področju fitofarmaceutskih sredstev.

1 UVOD

Nova zakonodaja na področju registracije fitofarmaceutskih sredstev je za razliko od obstoječe direktive uredba, ki jo je potrebno neposredno uporabljati, nacionalno se urejajo samo izvedbene aktivnosti. Glavnina sprememb, ki se pričakujejo na nivoju posamezne države članice bi lahko razdelili na dve ključni področji, in sicer; vpliv na pristojni organ, ki bo moral svoje aktivnosti prirediti zahtevam nove zakonodaje, kot tudi uporabniki, ki bodo v enem delu deležni manjšega števila snovi na trgu, v drugem pa v celoti izenačeni sosednjim primerljivim državam. V procesu sprejemanja nove zakonodaje je bilo izrečeno veliko število opozoril s strani proizvajalcev sredstev za varstvo rastlin kot tudi uporabnikov in na drugi strani nasprotnikov pretirane uporabe pesticidov v kmetijstvu, zato je dejanska slika v veliki meri popačena in ne odraža dejanskega stanja, zakonskega paketa. Ključna zahteva uporabnikov v postopku sprejemanja je bila imeti na voljo zadostno število snovi za uspešno zatiranje škodljivcev in plevelov pri pridelavi hrane in krme, zato je uvedba tako imenovanih izključitvenih kriterijev, za dovoljenje posamezne aktivne snovi še posebej burila duhove. Ti kriteriji so sestavljeni iz toksikoloških lastnosti snovi kot tudi iz okoljskih kriterijev, ki jih mora posamezna aktivna snov izpolnjevati, da se lahko daje na trg. Izključitveni toksikološki kriteriji vključujejo snovi, ki spadajo v prvo in drugo kategorijo rakotvornosti, reprodukcijske toksičnosti in mutagenosti poleg tega pa še za vse snovi, ki so spoznane za motilce hormonskega sistema. Predvsem slednje je povzročalo glavino preglavic zaradi dejstva, da kriteriji za hormonske motilce niso določeni, zato ni bilo mogoče določiti, katere snovi bi zapadle pod navedeni ukrep.

Pri okoljskih kriterijih, pa se glavina kriterijev nanaša na že obstoječe POPs kriterije, ki vključujejo obstojnost snovi v okolju, potencial za prenos snovi po zraku, kot tudi na bioakumulacijski potencial v živalih.

Opravljen je bilo veliko število študij vpliva nove zakonodaje na zmanjšanje števila snovi na trgu, katere so se spreminjale od 5 do 80% zmanjšanja snovi, predvsem v odvisnosti kdo je študijo izvedel. Na koncu je prevladalo mnenje, da bo zmanjšanje snovi v okviru od 7% do

¹ dr., Einspielerjeva 6, SI-1000 Ljubljana

12% odvisno od interpretacije zakonodaje. Tudi mi smo opravili okvirni pregled snovi, ki bi zapadle pod novo postavljene kriterije in smo prišli do sledečih ugotovitev, da bo zmanjšanje glede na trenutno registrirane aktivne snovi majhno. Seveda pa je to v določeni meri odvisno predvsem od izvajanje nove zakonodaje, ta del pa se bo šele vzpostavil, zato v tem trenutku težko govorimo o natančnih številkah.

Po drugi strani, pa bo z vzpostavitvijo tako imenovanega conalnega sistema registracij, kjer bo registracija v posamezni coni pomenila lahko tudi registracijo v ostalih državah v tej coni, bistveno izenačila dostopnost večjega števila pripravkov na trgu in predvsem izenačila pogoje kmetovanja iz tega vidika. Hkrati pa smo med našim predsedovanjem tudi uspeli doseči, da države ki mejijo na cone lahko prevzemajo registracijo tudi iz sosednje cone, kar za Slovenijo pomeni, da bomo imeli na voljo lahko tako registracije iz Nemčije kot tudi iz Italije.

Ostale spremembe, ki so novost v novi zakonodaji so: registracija pomagala, varoval in omočil, ki jih lahko vsebuje fitofarmacevtsko sredstvo ali pa kot samostojne snovi. Uvedba tako imenovanega primerjalnega ocenjevanja, kjer bomo primerjali posamezna sredstva za isti namen rabe glede na njihovo sprejemljivost, uvedba snovi z majhnim tveganjem, osnovnim snovem...

Vse predlagane spremembe pa bodo tudi imele velik vpliv na pristojni organ, ki se bo moral na novo reorganizirati in določiti nove naloge in nove načine ocenjevanja od obstoječega, to bo hkrati tudi možnost za poenostavitve obstoječega nacionalnega sistema.

Zakonodaja na področju trajnostne rabe pesticidov v kmetijstvu, pa bo za razliko od uredbe imela bistveno manjši vpliv zaradi osnovnega razloga, ker glavnino predlaganih rešitev že imamo nacionalno urejenih in jih v celoti izvajamo. Iz tega naslova bo potrebno nacionalno zakonodajo pregledati in morda v določenih segmentih najti še boljše rešitve, bo pa vpliv na same uporabnike majhen.

Je pa potrebno poudariti, da je osnovni cilj obeh zakonodaj v prvi vrsti izpostaviti dejstvo, da ima lahko raba fitofarmacevtskih sredstev negativne posledice za okolje kot tudi ljudi in da je potrebno predvsem uporabnike osveščati o negativnih vplivih in posledično privedi do stanja, kjer bo raba sredstev postala regulirana ne samo s strani države in njenih institucij ampak predvsem s strani uporabnikov.

2 SKLEP

Nova zakonodaja na področju fitofarmacevtskih sredstev bo v določeni meri imela negativne kot tudi pozitivne posledice za uporabnike, kot tudi pristojne organe. V določenih segmentih kmetijske proizvodnje je možno omejeno število pripravkov, kar pa nujno ne pomeni opustitev določene proizvodnje ampak uporabnike lahko prisili k drugačnemu načinu pridelave, kot tudi sili k razmišljanju k različnemu pristopu kmetovanja.

3 LITERATURA

Uredba o dajanju fitofarmacevtskih sredstev na trg;
Direktiva o trajnostni rabi pesticidov v kmetijstvu.

ZASTOPANOST FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV V KONTROLIRANI INTEGRIRANI PRIDELAVI

Doroteja OZIMIČ¹, Katarina KRESNIK², Dejan RITUPER³

^{1,2,3}Inštitut za kontrolo in certifikacijo v kmetijstvu in gozdarstvu, Maribor

IZVLEČEK

Zahteve po zdravi in kakovostni hrani, brez ostankov sredstev za varstvo rastlin, so pripeljale do uvedbe integrirane pridelave v kmetijstvu. Tovrstno pridelovanje je tako postalo pomemben člen trajnostnega razvoja. Integrirana pridelava pomeni uravnoteženo uporabo agrotehničnih ukrepov ob skladnem upoštevanju gospodarskih, ekoloških in toksikoloških dejavnikov. Pri tem imajo pri enakem gospodarskem učinku naravni ukrepi prednost pred fitofarmaceutskimi in biotehnološkimi ukrepi, kjer se upošteva integrirano varstvo rastlin, znotraj tega tudi biotično varstvo rastlin. Skladno z določili Pravilnikov za integrirano pridelavo, ki določajo tehnološke zahteve in omejitve pri integrirani pridelavi kmetijskih rastlin mora pridelovalec upoštevati tudi Tehnološka navodila za integrirano pridelavo, v katerih se vsako leto med drugim določi seznam dovoljenih fitofarmaceutskih sredstev (FFS). Pri pridelavi kmetijskih pridelkov oziroma rastlin je uporaba FFS še vedno nujen ukrep, da lahko pridelujemo na ekonomično upravičen način. Vendar pa se zaradi uporabe FFS tudi pri integrirani pridelavi soočamo z ostanki le-teh. V prispevku je prikazana ocena stanja glede uporabe FFS od leta 2006 do leta 2008, ki vključuje tudi 5% odvzem vzorcev kmetijskih pridelkov oziroma delov rastlin z namenom ugotavljanja zastopanosti morebitnih ostankov FFS. Vzorčenje kmetijskih pridelkov smo opravili v času rastle sezone pred pobiranjem oziroma v času pobiranja pridelkov. Pri obdelavi rezultatov analiz na ostanke FFS je bilo ugotovljeno, da se v večini primerov ugotavljajo aktivne snovi, ki so dovoljene v integrirani pridelavi, prav tako vrednosti ugotovljenih aktivnih snovi, niso presegale zakonsko določenih mejnih vrednosti (angl. MRLs-maximum residue levels). Vendar se kljub širokemu izboru FFS pri posameznih kmetijskih posevkih in nasadih, pojavljajo ostanki FFS, ki niso registrirana ali pa niso dovoljena pri posamezni kmetijski kulturi glede na vrsto integrirane pridelave. Vsekakor pa je vrsta in količina ostankov aktivnih snovi na kmetijskih pridelkih odvisna od uporabljenih FFS, od števila aplikacij FFS v rastni dobi, vremenskih razmer, uporabljene koncentracije in obdobja od zadnje aplikacije sredstva do pobiranja pridelka ter pojava bolezni in škodljivcev. Pomembno pri izvajanju integrirane pridelave je vsekakor spoštovanje predpisov, glede uporabe FFS, ki so dovoljeni v integrirani pridelavi. Pri izvajanju postopka certificiranja integrirane pridelave, je bilo preko spremljanja določanja aktivnih snovi, ugotovljeno, da se v večini primerov, kjer je bilo uporabljeno nedovoljeno FFS, to dogaja zaradi pomanjkanja ustreznih FFS na trgu, s katerimi bi lahko pridelovalci učinkovito zavarovali rastline pred škodljivci oziroma boleznimi, kar bi omogočilo hkrati povečano pridelavo in s tem tudi samooskrbo z določenimi kmetijskimi pridelki. Vsekakor je potrebno, pri registraciji in uporabi FFS vedno razmišljati v smeri zmanjšanja uporabe sredstev oziroma omogočiti pridelovalcem, da bodo lahko uporabljali FFS, ki so učinkoviti pri varstvu rastlin, hkrati pa se z njihovo uporabo ne bo slabšalo stanje v okolju v smislu onesnaženja podtalnice, onesnaženja tal, onesnaženja površinskih virov voda,....

¹ mag., Vinarska ulica 14, SI-2000 Maribor

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ dipl. inž. agr., prav tam

Ključne besede: aktivna snov, fitofarmacevtska sredstva, integrirana pridelava, pridelek, rastlina

ABSTRACT

REPRESENTATION OF PHYTOPHARMACEUTICALS IN CONTROLLED INTEGRATED CROP PRODUCTION

Demands after healthy and quality food without any residues of plant protection products have led to the introduction of integrated production in agriculture. Such production has become a significant element of sustainable development. Integrated crop production means a balanced use of agro-technical measures whereby taking into account economical, ecological and toxicological factors accordingly. With the same economic effect, natural measures have advantage over phytopharmaceutical and biotechnological measures whereby integrated plant protection and, within this frame, the biotic plant protection are taken into account. In accordance with the provisions of the Regulations for integrated production, which stipulate the technological requirements and restrictions of integrated crop production, the harvester must also consider the Technological directives for integrated production in which, inter alia, each year a list of permitted plant protection products (PPP) is set anew. With the production of agricultural products or plants the use of PPP is still a necessary measure in order to produce in an economically justified manner. However, due to the use of PPP in integrated production as well, we face their residues. This contribution shows an assessment of the situation regarding the use of PPP from 2006 to 2008, and it also contains a 5-percent collection of samples of agricultural products or parts of plants in order to establish the presence of potential residues of PPP. The sampling of agricultural products was carried out during growing season before harvesting or during harvesting. After processing the results of analyses on PPP residues, it was established that in most cases active substances are found which are permitted in integrated production, and the values of these active substances have not exceeded the legally prescribed maximum residue levels. However, regardless of the wide selection of PPP for individual crops, there appear PPP which are either not registered or permitted for an individual crop with respect to the type of integrated production. In any case, the type and number of active substances on agricultural products depends on the PPP used, the number of PPP applications during growing period, weather conditions, the concentration used, and the period from the last application of PPP to harvesting and occurrence of disease and pests. What is important in the implementation of integrated production is definitely the full consideration of regulations regarding the use of PPP that are permitted in integrated production. In the implementation of the procedure to certify integrated production, it was established through monitoring of active substances that in most cases where a prohibited PPP was used it was due to lack of suitable PPP on the market with which the harvester could have effectively protected the plants from pests or diseases, thereby allowing an increase in production and, accordingly, self-supply with certain agricultural products. Anyhow, when registering and using PPP we need to strive towards reducing their use or rather towards enabling the harvesters to use the PPP which effectively protect the plants whereas at the same time their use shall not make the environment worse in the sense of polluting ground water, the ground, the water resources on the surface, and so on.

Key words: active substance, phytopharmaceuticals, integrated production, harvest, plant

1 UVOD

Zahteve po zdravi in kakovostni hrani, brez ostankov sredstev za varstvo rastlin, so pripeljale do uvedbe integrirane pridelave v kmetijstvu. Tovrstno pridelovanje je tako postalo pomemben člen trajnostnega razvoja.

Integrirana pridelava pomeni uravnoteženo uporabo agrotehničnih ukrepov ob skladnem upoštevanju gospodarskih, ekoloških in toksikoloških dejavnikov. Pri tem imajo pri enakem gospodarskem učinku naravni ukrepi prednost pred fitofarmaceutskimi in biotehnološkimi ukrepi, kjer se upošteva integrirano varstvo rastlin, znotraj tega tudi biotično varstvo rastlin.

Skladno z določili Pravilnikov za integrirano pridelavo, ki določajo tehnološke zahteve in omejitve pri integrirani pridelavi kmetijskih rastlin mora pridelovalec upoštevati tudi Tehnološka navodila za integrirano pridelavo, v katerih se vsako leto med drugim določi seznam dovoljenih fitofarmaceutskih sredstev (FFS).

Pri pridelavi kmetijskih pridelkov oziroma rastlin je uporaba FFS še vedno nujen ukrep, da lahko pridelujemo rastline na ekonomično upravičen način.

Vendar pa se zaradi uporabe FFS tudi pri integrirani pridelavi soočamo z ostanki le-teh.

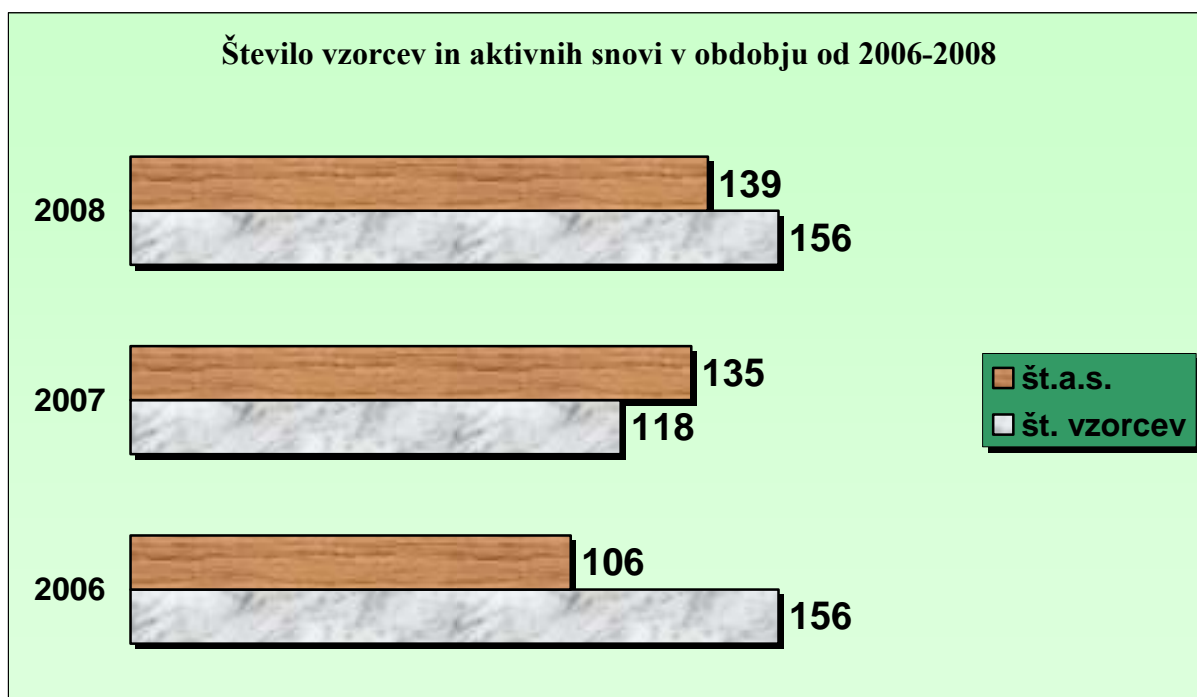
2 MATERIAL IN METODE

V prispevku je prikazana ocena stanja glede uporabe FFS od začetka izvajanja postopka certificiranja integrirane pridelave, ki vključuje tudi 5% odvzem vzorcev kmetijskih pridelkov oziroma delov rastlin z namenom ugotavljanja zastopanosti morebitnih ostankov FFS vse do sedaj. Vzorčenje kmetijskih pridelkov smo opravili v času rastle sezone pred spravilom oziroma v času spravila pridelkov.

V preglednicah, ki so predstavljene v prispevku je prikazano število odvzetih vzorcev ter število analiziranih aktivnih snovi.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V sklopu ugotavljanja fitofarmaceutskih sredstev v kmetijskih pridelkih smo v obdobju od leta 2006 do leta 2008 po posameznih letih ugotavljali aktivne snovi, katerih število smo vsako leto povečevali (slika 1).



Slika 1: Število vzorcev in aktivnih snovi v obdobju od 2006-2008

V letu 2006 smo po posamezni vrsti integrirane pridelave odvzeli različno število vzorcev ter ugotavljali različno število aktivnih snovi. Skupno smo odvzeli 156 vzorcev, od tega smo odvzeli 35 vzorcev sadja, 68 vzorcev grozdja, 34 vzorcev poljščin in 19 vzorcev zelenjave.

V vzorcih sadja smo ugotovili 8 različnih aktivnih snovi, zastopane ni bilo nobene nedovoljene aktivne snovi. Pogosto najdena aktivna snov med inskticidi pri integrirani pridelavi sadja je fosalon, ki se je pojavila v 12 vzorcih, zatem tudi diazinon, ki je bila odkrita v 5 vzorcih. Izmed fungicidov je bila najpogosteje odkrita aktivna snov ditiokarbamat, ki se je pojavila v 8 vzorcih.

Pri integrirani pridelavi grozdja smo odvzeli 68 vzorcev, v njih smo ugotovili 17 različnih aktivnih snovi, med katerimi smo ugotovili indoksakarb, cipermetrin, prosimidon, prometrin (2 vzorca), ki v letu 2006 niso bile dovoljene v integrirani pridelavi grozdja. Izmed fungicidov je bila najpogosteje odkrita aktivna snov ciprodinil (36 vzorcev) zatem fludioksonil (33 vzorcev) ter ditiokarbamati (29 vzorcev).

Na področju integrirane pridelave poljščin smo odvzeli 34 vzorcev, od tega smo odkrili 4 različne aktivne snovi. V vzorcih oljnih buč smo ugotavljali aktivne snovi metolaklor (5 vzorcev), pendimetalin (3 vzorci) ter dimetenamid (1 vzorec), ki niso bile dovoljene v integrirani pridelavi oljnih buč.

Pri integrirani pridelavi zelenjave smo odvzeli 19 vzorcev in v njih ugotovili 4 različne aktivne snovi. V belem zelju smo odkrili ditiokarbamate (1 vzorec) ter v korenju pendimetalin (1 vzorec) in prometrin (1 vzorec). Odkrite aktivne snovi v belem zelju in korenju v integrirani pridelavi zelenjave v letu 2006 niso bile dovoljene.

V okviru certificiranja procesov integrirane pridelave smo v letu 2007 odvzeli 135 vzorcev kmetijskih pridelkov oziroma živil.

Na področju integrirane pridelave sadja smo odvzeli 28 vzorcev sadja, v katerih smo ugotovili aktivne snovi boskalid (3 vzorci), ciprodinil (1 vzorec), fosalon (10 vzorcev) ter indokasakarb (3 vzorci). V sadju nismo ugotovili aktivnih snovi, ki v letu 2007 ne bi bile dovoljene v integrirani pridelavi sadja.

Pri integrirani pridelavi grozdja smo odvzeli 79 vzorcev, pri katerih smo ugotavljali aktivne snovi azoksistrobin (14 vzorcev), benalaksil (1 vzorec), boskalid (24 vzorcev), bromofos-metil (1 vzorec), ciprodinil (37 vzorcev), fenamidon (1 vzorec), fludioksonil (31 vzorec), folpet (53 vzorcev), fosalon (2 vzorca), indoksakarb (2 vzorca), iprodion (1 vzorec), iprovalikarb (33 vzorcev), klorotalonil (4 vzorci), klorpirifos-etil (10 vzorcev), kvinoksifen (6 vzorcev), metlaksil (10, vzorcev), pirimetanil (7 vzorcev), tebukonazol (4 vzorci), tolilfluanid (2 vzorca) ter trifloksistrobin (1 vzorec). Aktivni snovi bromofos-metil ter tolilfluanid v integrirani pridelavi grozdja v letu 2007 nista bili dovoljeni.

Na področju integrirane pridelave poljščin smo odvzeli 19 vzorcev v katerih smo ugotavljali aktivne snovi ciprokonazol (1 vzorec), azoksistrobin (1 vzorec), klorpirifos-metil (1 vzorec) ter pendimetalin (3 vzorci). Aktivna snov klorpirifos-metil v integrirani pridelavi krmnega graha v letu 2007 ni bila dovoljena.

Pri integrirani pridelavi zelenjave smo odvzeli 9 vzorcev, v katerih smo ugotovili aktivne snovi metalaksil (1 vzorec), pendimetalin (2 vzorca) ter klorpirifos-metil (1 vzorec). Aktivna snov klorpirifos-metil ni bila dovoljena v integrirani pridelavi rdeče pese v letu 2007.

V letu 2008 smo na področju certificiranja procesov integrirane pridelave odvzeli 156 vzorcev kmetijskih pridelkov oziroma zelenih delov rastlin.

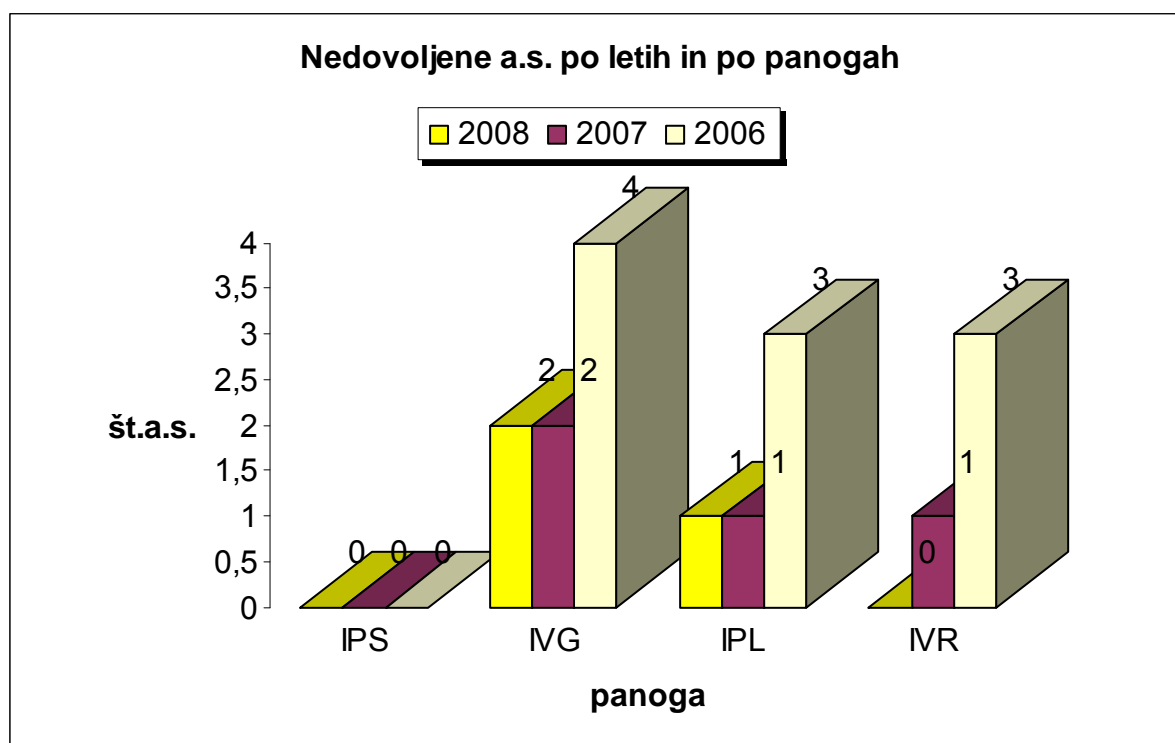
V okviru certificiranja integrirane pridelave sadja smo odvzeli 28 vzorcev sadja, v katerih smo ugotovili aktivne snovi kaptan (6 vzorcev), tiakloprid (5 vzorcev), boskalid (1 vzorec), diazinon (1 vzorec), spirodiklofen (1 vzorec), fosalon (1 vzorec), klorpirifos-etil (2 vzorca), flukvinkonazol (1 vzorec), fenheksamid (5 vzorcev) ter ciprodinil (2 vzorca). Vse ugotovljene aktivne snovi so bile dovoljene v integrirani pridelavi sadja.

Na področju integrirane pridelave grozdja smo odvzeli 97 vzorcev v katerih smo ugotovili aktivne snovi azoksistrobin (27 vzorcev), ciprodinil (58 vzorcev), fludioksonil (54 vzorcev), klorotalonil (23 vzorcev), metalaksil (20 vzorcev), iprovalikarb (20 vzorcev), folpet (58 vzorcev), fosalon (1 vzorec), fenheksamid (31 vzorec), pirimetanil (15 vzorcev), prosimidon (1 vzorec), spiroksamin (16 vzorcev), boskalid (31 vzorec), tebukonazol (11 vzorcev), indoksakarb (4 vzorcev), benalaksil (7 vzorcev), klorpirifos-metil (22 vzorcev), kvinoksifen (7 vzorcev), miklobutanil (2 vzorca), tebufenozid (11 vzorcev), fenazakvin (1 vzorec), famoksadon (2 vzorca) ter trifloksistrobin (2 vzorca). Med 97 vzorci, ki so bili odvzeti sta bili odkriti dve aktivni snovi, ki nista bili dovoljeni v integrirani pridelavi grozdja za leto 2008. V grozdju smo ugotovili fosalon in prosimidon.

Preglednica 1: Primerjava rezultatov v obdobju 2006-2008

	0a.s.				1a.s.				2a.s.				3a.s.				4a.s.			
	IPS	IVG	IPL	IVR	IPS	IVG	IPL	IVR	IPS	IVG	IPL	IVR	IPS	IVG	IPL	IVR	IPS	IVG	IPL	IVR
2006	15	7	29	12	7	9	3	2	7	15	2	1	3	12	2	1	1	10	0	0
2007	17	3	17	4	8	12	4	1	5	17	1	1	0	20	0	0	0	10	0	0
2008	12	4	17	9	5	7	3	0	7	11	2	0	2	12	0	0	2	15	0	0

	5a.s.				6a.s.				7a.s.				8a.s.				12a.s.			
	IPS	IVG	IPL	IVR	IPS	IVG	IPL	IVR	IPS	IVG	IPL	IVR	IPS	IVG	IPL	IVR	IPS	IVG	IPL	IVR
2006	1	9	0	0	0	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2007	0	8	0	0	0	5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2008	0	17	0	0	0	13	0	0	0	9	0	0	0	7	0	0	0	1	0	0



Slika 2: Nedovoljene aktivne snovi po letih in po vrsti integrirane pridelave

Na področju integrirane pridelave poljščin smo ugotovili aktivne snovi ciprokonazol (1 vzorec), propikonazol (1 vzorec), epoksikonazol (2 vzorca), piperonil butoksid (2 vzorca) ter

pirimifos-metil (1 vzorec). Aktivna snov pirimifos-metil v letu 2008 ni bila dovoljena za integrirano pridelavo krmnega graha.

Vsekakor pa je vrsta in število aktivnih snovi na kmetijskih pridelkih odvisna od uporabljenih FFS, od števila aplikacij FFS v rastni dobi, vremenskih razmer, uporabljene koncentracije in obdobja od zadnje aplikacije sredstva do spravila pridelka ter pojava boleznih in škodljivcev (preglednica 1)

Pri obdelavi rezultatov analiz na ostanke FFS je bilo ugotovljeno, da se v večini primerov ugotovljajo aktivne snovi, ki so dovoljene v integrirani pridelavi, prav tako vrednosti ugotovljenih aktivnih snovi, niso presegale zakonsko določenih mejnih vrednosti (angl. MRLs-maximum residue levels). Vendar se kljub širokemu izboru FFS pri posameznih kmetijskih posevkih in nasadih pojavljajo FFS, ki niso registrirana ali pa niso dovoljena pri posameznem ukrepu integrirane pridelave. Rezultati analiz so pokazali, da se je število aktivnih snovi, ki niso dovoljene v obdobju od 2006 – 2008 (slika 2) vsekakor zmanjšalo, kar je seveda pozitivno.

4 SKLEPI

Vsekakor je zdaj integrirana pridelava pravzaprav označena kot standard, kar seveda potrjuje pomembno in uspešno vlogo pri dvigu ravni pridelave kmetijskih pridelkov, kakor tudi, da je integrirana pridelava zdaj pred novimi izzivi (Tojnko in sod., 2008). Pomembno pri izvajanju integrirane pridelave je vsekakor spoštovanje predpisov, glede uporabe FFS, ki so dovoljeni v integrirani pridelavi. Vsekakor je integrirana pridelava doprinesla k nekaterim pozitivnim rezultatom pri ohranjanju okolja, predvsem v smislu zmanjševanja uporabe FFS, ki niso dovoljena za posamezno vrsto gojenih rastlin. Predvsem pa je potrebno pridelovalcem omogočiti uporabo FFS, ki niso obremenjujoča za okolje, vendar omogočajo učinkovito varstvo rastlin.

5 LITERATURA

Pravilnik za integrirano pridelavo grozdja, Uradni list RS, št. 63/02

Pravilnik za integrirano pridelavo sadja, Uradni list RS, št. 63/02

Pravilnik za integrirano pridelavo zelenjave, Uradni list RS, št. 63/02

Pravilnik za integrirano pridelavo poljščin, Uradni list RS, št. 10/04

Tojnko, S., Unuk, T., Lešnik, M., Zadavec, P. 2008. Smer razvoja integrirane pridelave sadja v Sloveniji, Zbornik referatov 2. slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško, 31. januar-2. februar 2008, Strokovno sadjarsko društvo, 43-48.

PROF. DR. FRANC JANEŽIČ - UTEMELJITELJ VARSTVA RASTLIN V SLOVENIJI

Lea MILEVOJ¹

Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

Zaslужni profesor dr. F. Janežič (1908-1999) je končal študij na Agronomsko gozdarski fakulteti v Zagrebu (1934) in se po krajši specializaciji, leto kasneje vrnil v Slovenijo, kjer je začel pionirsko delo na področju varstva rastlin, najprej na strokovnem, po doseženem doktoratu iz fitopatološke tematike (1947), pa tudi na znanstvenem področju. Fitopatologiji se je najprej zapisal in sicer že s prvo zaposlitvijo (1935) na mestu fitopatologa na Kmetijski poskusni in kontrolni postaji (sedanjem Kmetijskem inštitutu), v drugem obdobju svojega delovanja pa se je preusmeril predvsem v aplicirano entomologijo. Dve leti po ustanovitvi Agronomске in gozdarske (sedaj Biotehniške) fakultete v Ljubljani (1949), se je odzval vabilu in začel tu predavati najprej honorarno, kasneje pa redno vse do upokojitve (1978), predmete s področja varstva rastlin (Zaščita kmetijskih rastlin, ki se je kasneje preimenovala v Varstvo rastlin, Gozdna fitopatologija in Entomologija). Vseskozi se je zavedal, da je pisana beseda tista, ki za človeka in človekom ostane in prav na ta način se je stalno potrjeval. Objavljal je v znanstvenih revijah (Zbornik Biotehniške fakultete (sedaj *Acta agriculturae Slovenica*), Biološki vestnik, Zaščita bilja) in različnih strokovnih časopisih. Napisal je 15 knjig in brošur za potrebe dodiplomskega študija, pa tudi širše kmetijske prakse. V okviru pedagoškega in raziskovalnega dela je negoval in skrbel za slovensko izrazje s področja varstva rastlin. Objavil je Indeks rastlinskih boleznih (1957). Sestavil je seznam strokovnih izrazov (Kmetijski tehniški slovar, 1. knjiga, 3. zvezek, Varstvo rastlin) (1961), ki so v kakršni koli zvezi z rastlinskimi boleznimi in škodljivci, z namenom, da bi bili pristopni vsakomur, ki jih potrebuje. Upravičeno ga imenujemo za utemeljitelja slovenskega varstva rastlin kot specializirane kmetijske stroke in posebne znanstvene discipline- fitomedicine.

Ključne besede: varstvo rastlin, Biotehniška fakulteta, Slovenija

ABSTRACT

PROF. DR. FRANC JANEŽIČ - THE FOUNDER OF PLANT PROTECTION IN SLOVENIA

Emeritus Professor Dr. F. Janežič (1908-1999) finished his studies at the Faculty of Agronomy and Forestry in Zagreb (1934). After a short specialization he returned a year later to Slovenia, where he started his pioneer work in the field of plant protection. At first he took on projects at professional level and then at scientific level after he had completed a doctor's degree in a phytopathological topic. His first field of interest was phytopathology as he got a job as a phytopathologist (1935) at the Agricultural Test and Control Station (the present Agricultural Institut of Slovenia), while in the second part of his career he turned to applied entomology in particular. Two years after the Faculty of Agronomy and Forestry (the present Biotechnical Faculty) had been founded in Ljubljana (1949), he accepted the invitation to give lectures there, at first on a part-time basis and later as a full-time employee. He held this post until he retired (1978). He lectured on plant protection (Protection of

¹ red. prof., dr., v pokoju, e-mail: lea.milevoj@gmail.com

Agricultural Plants, later renamed Plant Protection, Forest Phytopathology, and Entomology). He was all the time well aware that it is essential for a scientist to publish and in this way he also constantly asserted himself. He published in scientific magazines (Research Reports of Biotechnical Faculty – the present *Acta agriculturae*, *Biološki vestnik* - Biological Journal, *Zaštita bilja* – Plant Protection) and in different professional periodicals. He is the author of 15 books and brochures written for the needs of undergraduates studies as well as for agricultural practice in general. Within the framework of his educational and research work, he attended to Slovene terminology from the field of plant protection. He published an Index of plant diseases (1957). He compiled a list of professional words and expressions (*Kmetijski tehniški slovar* – Agricultural Technical Dictionary, Book 1, Volume 3, Plant Protection) (1961), which are in any way connected with plant diseases and pests, so that they are available for anyone concerned with the field. In conclusion it may be underlined that Prof. Janežič is justifiably regarded as the founder of plant protection in Slovenia as a specialized agricultural field and a special scientific discipline – phytomedicine.

Key words: plant protection, Biotechnical Faculty, Slovenia

1 UVOD

Z vprašanji zdravstvenega varstva rastlin pred škodljivci in boleznimi se do pojava pepelovke (1842) in peronosporne vinske trte (1875) ter trtne uši ni ukvarjal nihče, nato pa so se s temi do začetka 20. stoletja ukvarjali v neznatnem obsegu botaniki, entomologi, gimnazijski profesorji, duhovniki, potujoči kmetijski učitelji in osnovnošolski učitelji ter razni amaterji, ki so nanje opozarjali ustno ali pisno v strokovnih knjigah in drugih prispevkih. Po prvi svetovni vojni, ko so bili kmetijski pridelki nizki tudi zaradi različnih škodljivih organizmov, je država posegla s predpisi in spodbudami za večje pridelke. Leta 1930 je Zakon o varstvu rastlin uredil postopke preventivnega varstva. Nekateri slovenski dijaki so se odločili za študij agronomije in specializacijo na kmetijskih fakultetah v Zagrebu oziroma Beogradu. Med njimi je bil tudi poznejši zaslužni profesor na Biotehniški fakulteti dr. Franc Janežič, ki ga je pritegnila fitopatologija, za katero se je ogrel v Zagrebu. Po tam končanem študiju in povratku v Slovenijo, je začel orati ledino na področju varstva rastlin kot specializirane kmetijske stroke in posebne znanstvene discipline, imenovane fitomedicina.

Lani je minilo 100 let od njegovega rojstva, letos 10 let od njegove smrti in 60 let, ko je kot prvi pri nas začel predavati vsebine iz varstva rastlin na predhodnici sedanje Biotehniške fakultete. Bil je prvi raziskovalec in univerzitetni učitelj na področju zdravstvenega varstva rastlin v Sloveniji, katerega raziskovalno, strokovno in pedagoško delo je ostalo trajno zapisano in ga upravičeno imenujemo za utemeljitelja slovenskega varstva rastlin. Prav je, da se ob omenjenih obletnicah, na letošnjem posvetovanju poklonimo njegovemu spominu.. Njegovi sodelavci smo ga doživljali kot blagega predstojnika, nekdanji njegovi študenti agronomije in gozdarstva, so ga poznali kot zahtevnega profesorja, vsi pa kot resnicoljubnega strokovnjaka, odličnega znanstvenika ter uglednega in spoštovanega človeka. V čast mi je, da lahko predstavim življenje in delo zaslužnega profesorja F. Janežiča, ki je bil tudi moj učitelj in kasneje predstojnik.

2 ŽIVLJENJE IN DELO

Franc Janežič (podpisoval se je tudi Franjo) se je rodil 18. avgusta 1908, v Brebrovniški grapi (Pavlovski vrh 56) ob cesti med Ormožem, Svetinjami in Humom. Izšel je iz velike kmečke družine. Po osnovni šoli v Miklavžu, ter klasični gimnaziji v Mariboru, je nadaljeval študij agronomije na Agronomsko-gozdarski fakulteti v Zagrebu, kjer je diplomiral leta 1934. Zanimala ga je fitopatologija, zato je ostal v Zagrebu na krajši specializaciji pri profesorju Vladimirju Škoriću, ki je tedaj predaval fitopatologijo na imenovani ustanovi. Janežič je

nameraval tam takoj začeti z delom na doktorski disertaciji. Tedaj pa se je sprostilo delovno mesto fitopatologa na Kmetijski poskusni in kontrolni postaji v Ljubljani, sedanjem Kmetijskem inštitutu Slovenije, ki ga je pred njim zasedala dr. Milena Perušek, katere delo je bilo bolj botanično fitopatološko. Po posvetu s prof. Škoričem je Janežič vložil prošnjo za mesto fitopatologa. Tedaj je bilo malo možnosti za zaposlitev diplomiranih inženirjev agronomije. Med prijavljenimi kandidati je bil izbran Janežič. Specializacijo je končal z odličnim uspehom 15. maja 1935 in pridobil naziv specialist fitopatolog. Prekinil je začeto delo na doktorski disertaciji in istega datuma nastopil službo fitopatologa na navedeni postaji. Janežič je zastavil delo na široko. V začetku je deloval predvsem na determinacijah bolezni in škodljivcev in svetovanju njihovega zatiranja. Z izvozom kmetijskih pridelkov v letih pred drugo svetovno vojno, se je začela uveljavljati tudi obmejna fitokarantenska služba. Janežič je poleg rednega dela prevzel tudi obmejni nadzor v Ljubljani in na Jesenicah. Med okupacijo je bilo njegovo delo omejeno najprej na Ljubljansko pokrajino, pozneje pa le na Ljubljano. Takoj ob ustanovitvi OF je postal njen član, saj je odobral njen osvobodilni program v narodnostnem in socialnem oziru. Leta 1944 je bil aretiran in iz zapore odpeljan v koncentracijsko taborišče Dachau in nato Buchenwald, kjer je ves shiran in sestradan pričakal osvoboditev 12. aprila 1945, kakor je sam zapisal. Po osvoboditvi se je vrnil na staro službeno mesto v Ljubljani ter se spet spoprijel s strokovnim delom. Leta 1946 je prejel štipendijo UNRRA za študij fitopatologije v Združenih državah Amerike, kjer je spoznaval tamkajšnji način varstva rastlin na raziskovalnem in znanstvenem področju. Aprila 1947 se je vrnil v Ljubljano in takoj prevzel vodenje Inštituta za zaščito rastlin pri Kmetijskem znanstvenem zavodu (prej imenovani Kmetijski poskusni in kontrolni postaji v Ljubljani), vse do leta 1951. Oktobra leta 1947 je zagovarjal svojo doktorsko disertacijo z naslovom O crnoj listnoj pegavosti endivije, koju uzrokuje gljiva *Alternaria solani* f. *endiviae*, na Zagrebški agronomski fakulteti, ki jo je izdelal pod mentorstvom prof. Škorića.

Dve leti po ustanovitvi Agronomske in gozdarske fakultete (sedaj Biotehniške) v Ljubljani, leta 1949, se je odzval njenemu vabilu in začel predavati honorarno predmet Zaščita kmetijskih rastlin. Leta 1951 ga je fakultetni svet na podlagi strokovnih mnenj dveh univerzitetnih profesorjev Željka Kovačevića iz Zagreba in Ignjata Pobegajla iz Sarajeva soglasno izbral za izrednega profesorja za predmet Zaščita kmetijskih rastlin. Ime predmeta je verjetno odraz administrativnih okoliščin in kraja študija, kar pa se je ohranilo do današnjih dni v besednjaku nestrokovnjakov. Profesor Janežič je dosledno uporabljal izraz Varstvo rastlin, podobno kakor se danes z domačo besedo označuje Fitomedicina. Leta 1951 se je na Agronomski in gozdarski fakulteti tudi zaposlil. V naziv izrednega profesorja je bil ponovno izvoljen leta 1957 in sicer za predmeta Varstvo rastlin in Gozdarska fitopatologija. Leta 1963 je postal redni profesor za Varstvo rastlin na Biotehniški fakulteti, predaval je predmet Varstvo rastlin I. in II. in novo vpeljani predmet Entomologija na dodiplomskem študiju do upokojitve, na podiplomskem študiju pa tudi kasneje. Gozdno fitopatologijo je predaval od leta 1952 do leta 1974. Upokojil se je leta 1978. Leta 1985 je prejel nagrado Borisa Kidriča za življenjsko delo. Biotehniška fakulteta mu je leta 1987 podelila naslov zaslužni profesor kot družbeno priznanje za izjemne dosežke pri vzgojno izobraževalnem in mentorskem delu, znanstveno raziskovalnem in publicističnem delu na področju agronomije. Z Biotehniško fakulteto in njegovo bivšo katedro je ostal povezan tudi kasneje. Ob njegovi 90-letnici sta Oddelek za agronomijo Biotehniške fakultete in Društvo za varstvo rastlin Slovenije priredila priložnostno svečanost s predstavitvijo njegovega življenja in dela ter razstavo njegovih del, katerih naslovi so objavljeni v prispevku, ki sta ga pripravila Milevoj in Maček (1998). Profesor Janežič se je prireditve razveselil, vendar se je žal ni mogel udeležiti in ga je zastopal njegov vnuk. Umrl je 14. septembra leta 1999 v Ljubljani. Na njegovo željo so ga pokopali v najozjemem družinskem krogu na Ljubljanskih Žalah.

3 ZNANSTVENA, PEDAGOŠKA IN STROKOVNA ZAPUŠČINA

Janežičeva znanstvena, pedagoška in strokovna zapuščina je obsežna in sega na področje fitopatologije, entomologije in splošnega varstva rastlin. Janežič je bil nedvomno prvi fitomedicinski strokovnjak pri nas, ki je oral brazde najprej na področju fitopatologije, kmetijske in gozdne ter celotnega varstva rastlin, v 70 letih prejšnjega stoletja se je usmeril na področje aplikativne entomologije.

Od sredine 30 let dalje je bilo njegovo znanstveno zanimanje usmerjeno v fitopatologijo, predvsem v raziskave mikofloristike. Skromna oprema mu namreč ni omogočala obširnejših poskusov, zato je zbiral materiale obolelih rastlin z obhodi na terenu. Determiniral je povzročitelje in jih sistematsko razvrščal. Svoje najdbe je objavil v petih znanstvenih člankih. Leta 1957 je izšel Indeks rastlinskih bolezni v Sloveniji ter leta 1970 Dodatek k indeksu rastlinskih bolezni v Sloveniji. Indeks vsebuje 730 dotlej znanih povzročiteljev rastlinskih bolezni, na 235 rastlinskih vrstah ali (redko) rodovih. Ker so nekateri povzročitelji isti na več vrstah rastlin, je v delu navedeno 919 glivičnih, 26 bakterijskih, 32 virusnih in 31 neparazitskih obolenj, 52 pa je takšnih, ki jih povzročajo parazitske cvetnice. Avtor jih je razvrstil na podlagi latinskih imen po abecedi, za vsako vrsto gostiteljskih rastlin ločeno. Za vsakega povzročitelja bolezni je navedel tudi njegovo zastopanost na ozemlju Slovenije. Imena gostiteljev so tedaj veljavna latinska in domača. Za nekatere bolezni je napisal tudi slovenska imena. Poleg poljščin, vrtnin, okrasnih rastlin, sadnega drevja, vinske trte, gozdnega drevja, vključuje Indeks tudi nekatere zdravilne rastline in plevelce. Indeks je rezultat več kot 20 let trajajočih avtorjevih opazovanj in zbiranj, vključuje pa tudi material, ki je prihajal na Kmetijsko poskusno in kontrolno postajo v Ljubljani, na Kmetijski znanstveni zavod, na Agronomsko in gozdarsko fakulteto ter deloma Gozdarski inštitut, vse v Ljubljani. Avtor se je zavedal, da seznam ni popoln, zlasti manjkajo paraziti na redkeje gojenih rastlinah. Dodatek k indeksu rastlinskih bolezni v Sloveniji pa vsebuje kasnejše najdbe (od 1957 do 1970) povzročiteljev bolezni (155 na 100 vrstah rastlin), ki so predstavljene na podoben način. Navedena so tudi slovenska imena bolezni. Čeprav je Indeks izšel pred več kot 50 leti, Dodatek pa pred 39, sta obe deli s popravki oziroma vnosom posameznih novejših latinskih poimenovanj, še vedno aktualni in edinstveni, vendar žal pogosto spregledani.

Posebno skrb je že od samega začetka svojega delovanja gojil do slovenskega jezika oziroma jezika stroke. Za študij jezikov je imel veselje že v gimnazijskih letih, ko se je prostovoljno učil ruski, češki, italijanski in francoski jezik. V mladih letih je obvladal aktivno srbohrvaški, nemški in angleški jezik, pasivno pa ruščino in italijanščino, je zapisal v svojem življenjepisu leta 1951. Jezikovna nadarjenost se zrcali tudi v njegovih prispevkih, znanstvenih in strokovnih, ki so napisani razumljivo, stavki so največkrat kratki in jedrnat. Prizadevno je sodeloval pri oblikovanju Kmetijskega tehniškega slovarja, za katerega je sestavil strokovno izrazje s področja varstva rastlin, ki je izšlo v 3. zvezku, 1. knjige z naslovom Varstvo rastlin. Obsega 1911 gesel, med katerimi so med drugim latinska imena škodljivih organizmov in domača imena. Zbral je še druge izraze, ki so v kakršni koli zvezi z rastlinskimi boleznimi in škodljivci. Seznam je sestavljen v obliki slovarja. Tedaj je zapisal: « Potreba po takem seznamu je dovolj velika, saj so te vrste izrazi tako malo znani, da neredko beremo v strokovnih knjigah in časopisih dokaj čudne besede. Mnogi popačeni termini izvirajo iz dobesednega prevajanja tujejezičnih izrazov, v nepoznavanju domačih ljudskih. »

Pojav krompirjevega in kostanjevega raka je usmeril Janežiča, da je zelo izčrpno obdelal ti dve bolezni v naših razmerah, o čemer je poročal tudi na znanstvenih konferencah v tujini in v domačem in tujem znanstvenem tisku. Krompirjevega raka (*Synchytrium endobioticum*/Schilbersky/ Percival), je ugotovil pri nas na Planini pod Golico leta 1954 in da je pri nas razširjen biotip 1 tega raka, ki je tudi drugje po svetu najbolj razširjen. Pozneje ga je

ugotovil tudi v Črni gori. Več let je testiral vse nove sorte krompirja in žlahtniteljski material zanj proti tej bolezni. Žarišče na Planini je spremljal veliko let, vse dokler trajne spore niso izgubile kalivost. Vzporedno je preučeval tudi odpornost različnih sort krompirja na prašno krastavost (*Sponogospora subterranea*/Wallr./John.), razširjeno na vlažnih in hladnih območjih Slovenije.

Prvo žarišče kostanjevega raka z latinskim imenom povzročitelja *Endothia parasitica* /Murr./A. & A. oziroma zdaj *Chryphonectria parasitica* /Murill/Barr., je bilo najdeno v okolici Nove Gorice leta 1950. Priporočali so sečnjo okuženih dreves, ki pa ni bila obvezujoča. Karantenski predpisi so prepovedovali izvoz kostanja iz okuženih območij, ki je bil prej posebno živahen v bližnje italijanske tovarne tanina. Bolezen kostanja je socialno ogrozila prebivalce z območja zahodnih Brd in s Kambreškega, ki so nabirali in prodajali plodove v Italijo. Problemi, ki jih je povzročila nova bolezen kostanja, so pritegnili Janežiča, da se je resno lotil raziskav, za zmanjšanje škode. Med drugim je preučeval s kakšno hitrostjo se širi micelij glive v kostanjevi skorji, ali glivo razširjajo čebele ter kakšne so možnosti razkuževanja plodov in kostanjevega lesa? Vzgajal je tudi križance, mutante in ekotipe domačega kostanja na odpornost na raka s tedaj najmodernejšimi metodami obsevanja z različnimi žarki. Ker v Sloveniji ni bilo nikogar, ki bi se ukvarjal z boleznimi gozdnega drevja so kot začasno rešitev, ki je trajala več desetletij, pridobili fitopatološko široko razgledanega profesorja Janežiča, ki je prevzel predavanja iz gozdne fitopatologije na Gozdarskem oddelku tedanje Fakultete za agronomijo, gozdarstvo in veterino. Kot tak je bil poklican za raziskave kostanjevega raka. Da se je oblikoval v cenjenega gozdnega fitopatologa priča dejstvo, da je bil povabljen k sodelovanju pri Šumarski enciklopediji leta 1959, ki jo je izdal Jugoslovanski leksikografski zavod v Zagrebu.

Raziskoval je tudi vrsto drugih rastlinskih bolezni. Zaradi splošne razširjenosti *Alternaria* vrst pri nas, kakor je zapisal, si je na začetku svojega delovanja zadal cilj preučiti glivo, ki povzroča obolelost endivije, osvetliti njeno biologijo ter preučiti možnosti njenega zatiranja. Bolezen je opazoval od leta 1934 dalje. To je bila tudi njegova doktorska tema. Leta 1957 je izšlo to njegovo znanstveno delo v Zborniku za kmetijstvo in gozdarstvo pri Založbi Kmečka knjiga v Ljubljani pod naslovom Črna listna pegavost endivije, kjer je podrobno opisal bolezen (bolezenska znamenja, razširjenost, škoda, čas pojavljanja bolezni, zunanji vplivi nanjo) in lastne raziskave povzročitelja (fruktifikacija glive, povzročiteljice v naravi, razvoj glive v umetnih kulturah, kalivost trosov, vpliv abiotičnih dejavnikov na micelij in konidije, prikazal je rezultate umetnih infekcij z endivijino alternarijo kakor jo je imenoval in drugimi *Alternaria* vrstami in podal druge ugotovitve dotlej neznanih specifičnosti tega parazita. Med drugim je zapisal: »Po obliki peg, obliki in velikosti konidijev je *Alternaria* z endivije, ki je v Sloveniji povsod razširjena, zelo blizu glivi *Alternaria cichorii* Nattr.« Pod tem imenom se zdaj obravnava povzročitelj v strokovni literaturi. V delu opisuje zvezo obravnavanega parazita z endivije z drugimi sorodnimi *Alternaria* vrstami.

Janežičevo fitopatološko delo je trajne vrednosti. Značilno zanj je bilo tudi to, da se je vedno ukvarjal s perečimi aktualnimi problemi in tako skušal pomagati neposredni kmetijski oziroma gozdarski praksi.

Tudi na področju aplicirane entomologije je preučeval aktualne škodljivce kmetijskih rastlin. Veliko je pisal o novem in nevarnem škodljivcu krompirja koloradskem hrošču (*Leptinotarsa decemlineata*). Bil je glavni koordinator njegovega zatiranja v Sloveniji, ki se je tedaj opravljalo le ročno s pobiranjem hrošča po krompirjevih nasadih s posebnimi akcijami, kjer so skupinsko sodelovali odrasli, šolarji in razne lokalne politične organizacije. V knjižici Bolezni in zajedavci na vrtninah, ki je izšla leta 1944 v Ljubljani, je med drugim napisal: »Najpožrešnejši krompirjev zajedavec, koloradski hrošč ali krompirjavec, ki je velika nesreča za deželo, kjer se ugnezdi, se je že nevarno približal od severa našim krajem. Nimamo ga najbrže še sicer pri nas, vsaj najden še ni bil nikjer, a pričakovati moramo vsak čas njegovega

vdora«. Na ozemlju Slovenije so ga našli najprej na Krškem polju leta 1946, v tedanjem okraju Krško in v okolici Brežic. Leta 1950 se je pojavil ob meji z Italijo in se splošno razširil zlasti v tedanjem Goriškem okraju. Pod Janežičevim vodstvom so potekale njegove biološke raziskave in poskusi zatiranja. V poljskih poskusih v Vipolžah je ugotovil, da razvije tri rodove letno. Poskusi so pokazali, koliko časa je potrebno, da se razvije posamezni rod, kar je pomembno za načrtovanje varstvenih ukrepov. Na isti lokaciji so preučevali učinkovitost nekaterih kemičnih sredstev proti odraslim hroščem in ličinkam. Preizkušali so svinčev arzenat v 0,5% in 0,7% koncentraciji ter prašivi pantakan in pepein, ki sta vsebovali aktivno snov DDT in sicer po 5%. Obe imeni sta se tako zakoreninili med ljudmi, da nekateri ljubiteljski pridelovalci krompirja še dandanes sprašujejo v fitomedicinskih lekarnah po pantakanu, čeprav je bil DDT že leta 1972 prepovedan. Preizkušal je tudi lindan. Vsa sredstva so bila zelo učinkovita. O stranskih učinkih teh sredstev se takrat ni govorilo. Kljub skrbno organiziranim pregledom in mehničnemu in kasneje kemičnemu zatiranju, se je škodljivec udomačil.

Ameriški kapar (*Quadraspidiotus perniciosus* Comstock), imenovan tudi kalifornijski, je bil najden prvič v Sloveniji leta 1935 v Litiji in v Šmarju pri Jelšah, leta 1936 pa v Mariboru in v Prekmurju. Med drugo svetovno vojno in po njej se je širil najprej po dolinah in ob prometnicah. Do leta 1954 se je razširil po vsem ozemlju. Najden ni bil edino še v okrajih Sežana, Postojna in Radovljica, kakor je Janežič napisal leta 1954. Najhuje so bili prizadeti Prekmurje, vzhodna in južna Štajerska ter Dolenjska, zlasti jablana, hruška, ribez, breskev. V letih 1947/48 in kasneje je laboratorijsko testiral sredstva proti amerškemu kaparju. Leta 1950 je vlada LR Slovenije izdala uredbo o obveznem zatiranju škodljivcev in boleznih sadnega drevja, ki je predpisovala urejanje starejših nasadov. Uredba je predpisala vsaj enkratno obvezno zatiranje kaparja v okoliših, ki so bili napadeni.

Janežič je med prvimi pri nas raziskoval še druge kaparje, ki so bili pred njim pri nas malo opisani. Našel je 44 vrst predvsem na sadnem drevju, gozdnem drevju in okrasnih rastlinah.

Zelo temeljite in sistematične so njegove raziskave majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.), za katerega je ugotovil, da se razvija v Sloveniji 3 leta. Leta 1952 je sestavil kartico o pojavljanju majskega hrošča. V osrednjem in južnem delu Slovenije se pojavlja majski hrošč isto leto (zaporedje III 1), v severovzhodnem delu ter zahodnem pa se pojavljajo hrošči eno leto poprej (zaporedje III 0). V letih 1962 do 1970 je zbral podatke o pojavljanju majskega hrošča v sodelovanju z ljudskimi šolami in pripravil karto o pojavljanju majskega hrošča v Sloveniji. Največji del Slovenije je v območju zaporedja III 1, ki je bilo leta 1957 zelo oslABLJENO zaradi hude majske pozebe s snegom in se je do začetka 70 let le počasi krepilo. Razširjenost in množični pojav hroščev je odvisen od vremena. Visoke letne temperature z malo padavin pospešujejo razvoj hroščev, nizke temperature in veliko padavin pa zavirajo njihov razvoj, je napisal. Ugotovil je, da v Sloveniji prevladuje poljski majski hrošč (*Melolontha melolontha* L., le v manjših okoliših pa gozdni majski hrošč (*Melolontha hippocastani* Fabr.).

Glede na pomen črne detelje v Sloveniji in semenarjenje s t. im. Kranjsko deteljo, ki je bila v avstrijskih časih in med obema vojnoma po svetu zelo cenjena, je sistematsko preučeval hroščke apione in ugotovil, da je v Sloveniji najbolj razširjen deteljni dolgoglavček (*Apion apricans* Hbst.), kateremu sledijo vrste *A. aestivum* Germ., *A. assimile* Kirby in *A. varipes* Germ. Preučeval je tudi razvojni krog apionov, v začetku 50-ih let pa vrste in pojavljanje škodljivih zimskih pedicev tudi v povezavi z ekološkimi razmerami na območju Slovenije.

Na mejnem področju med fitopatologijo in entomologijo je raziskoval čas pojava in razširjenost listnih uši, prenašalk virusnih bolezni na krompirju v Sloveniji. To delo, opravljano v petdesetih letih prejšnjega stoletja, je bilo tedaj med prvimi v deželah, kjer pridelujejo krompir in je še vedno aktualno za pridelovalce semenskega krompirja.

Za znanost in prakso je koristna in pomembna ter časovno zahtevna Janežičeva 10 letna (1960 do 1969) raziskava razvoja bramorja (*Gryllotalpa gryllotalpa* L.) v Sloveniji. Na podlagi opazovanj v naravi in z gojitvijo žuželke v lesenih zabojih je dognal, da bramor odlaga jajčeca od maja do avgusta (vendar najpogosteje junija). Razvoj ličink traja do jeseni (septembra) prihodnjega leta. Lahko pa ličinke tudi dvakrat prezimijo in dorastejo spomladi (maja) naslednjega leta. Ves razvoj tako traja skozi dve leti, od 15 do 22 mesecev.

Pomoč za reševanje problemov v urbanem prostoru so že v Janežičevem času, podobno kakor danes, iskali mnogi pri strokovnjaku za varstvo rastlin. V tej zvezi so potekale raziskave zatiranja termitov zaradi saniranja zgradb, ki so jih odkrili na slovenskem obalnem območju leta 1965. To sta bili vrsti *Reticulitermes lucifugus* Rossi in *Kaloterms flavicollis* Fabr.

Pomembne so njegove raziskave pršic prelka (Tetranychidae), ki jih je našel v petletnem obdobju proučevanj. Popisal je 13 vrst, njihove rastline gostiteljice, njihovo razširjenost in pomen. Vrste so sledeče: *Bryobia rubrioculus* Scheut., *Panonychus ulmi* Koch., *Neotetranychus rubi* Traeg., *Schizotetranychus schizopus* Zach., *Eotetranychus tiliarum* Herm., *E. fagi* Zch., *E. pomi* Sepasg., *E. carpini* Oud., *E. populi* Koch., *Oligonychus ununguis* Jac., *Tetranychus urticae* Koch, *T. u. f. dianthica* Dosse, *T. vienennensis* Zach.

Od začetka 70 let dalje je svoje raziskovalno delo usmeril v preučevanje rastlinskih šišk (zoo- in fitocecidijskih) na gojenih in samoniklih rastlinah. Ugotovil je 530 vrst cecidogenih živalic iz različnih taksonomskih skupin, med katerimi so nove vrste za Južno in Jugovzhodno Evropo. Malo je držav, ki bi imele tako dobro preučeno cecidogeno favno. Raziskoval jo je tudi na Hrvaškem (na Cresu, Lošinjju ter Istri), v Srbiji, v Bosni in Hercegovini in v Makedoniji. Opisal je tri za znanost nove vrste zoocecidijskih in sicer hrčice *Dasyneura cotini* sp. nov., *Contarinia coronillae* sp. in *Contarinia istriana* sp. nov.

V zadnjem desetletju svojega življenja je Janežič raziskoval resarje (tripse), ki jih je pred njim na območju Slovenije edino R. zur Strassen. Rezultate svojih raziskav je objavil v treh prispevkih. Ugotovil je 44 vrst prvič na območju Slovenije. Opisal je vrsto *Melanthrips crataegi*, ki jo je našel leta 1991 na navadnem glogu (*Crataegus oxyacantha* L.) v Portorožu, kasneje pa še na nekaterih drugih rastlinah v Portorožu, Fiesi oziroma Strunjanu. Prvič je na območju Slovenije leta 1992 ugotovil cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* /Pe) in sicer v cvetovih nageljčka (*Dianthus caryophyllus* L.), in ga je tudi slovensko poimenoval. Dandanes je cvetlični resar, ki je bil v devetdesetih letih karantenski, gospodarsko pomembna vrsta zlasti na okrasnih rastlinah in vrtninah, ki jih gojijo v rastlinjakih in se težko zatira.

Z navedenimi deli se je v znanost zapisal kot pomemben taksonomsko zoogeografsko usmerjen entomolog.

Profesor Janežič se je že zgodaj uveljavil kot plodovit strokovni pisec. Veliko je delal na strokovnem področju. Zlasti v prvem povojnem obdobju je sodeloval v vsaki akciji za varstvo rastlin, katerih pa ni bilo malo. V začetku svoje strokovne poti je v skladu s tedanjimi potrebami opravljal preizkušanja raznih fitofarmaceutskih sredstev, kar pa je pozneje opustil. V knjižici z naslovom Kemijska sredstva za zaščito rastlin, ki jo je izdala založba Kmečki glas leta 1948, uvodoma med drugim piše: »Rastline varujemo pred škodo od bolezni in zajedavcev na več načinov, ki se v učinku izpopolnjujejo. Predvsem moramo skrbeti za higieno rastlin, ...«, kar je še kako aktualno v integrirani pridelavi. Glede kemičnih sredstev pa med drugim piše:« Večkrat se slišijo pritožbe, da to ali ono sredstvo za zatiranje rastlinskih bolezni in zajedavcev ni bilo dovolj učinkovito ali pa celo, da je rastlinam škodilo. Vzrok slabe učinkovitosti sredstev ali njihove škodljivosti rastlinam je ta, ker so bila sredstva nepravilno rabljena«. Objavil je desetino samostojnih strokovnih publikacij ter več deset strokovnih razprav in na tisoč krajših sestavkov (npr. odgovorov) v različnih časopisih in revijah (Kmečki glas, Moj mali svet, Sadjar in vrtnar, Orač, Naša vas, Proteus). Zajel je tudi determinacije povzročiteljev bolezni in škodljivcev ter dajal nasvete za njihovo zatiranje. V

prvih desetletjih po drugi svetovni vojni so bili zelo priljubljeni radijski nasveti. Zelo številni so bili izpod peresa profesorja Janežiča.

Pisani besedi je kakor iz prikazanega sledi, namenjal posebno skrb, pa tudi drugim študijskim pripomočkom, slikam in zbirki škodljivih organizmov, na katero je bil posebno ponosen in, ki še danes služi študijskim potrebam in znanstvenim namenom na sedanji Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, travništvo in pašništvo, na Oddelku za agronomijo. Na vprašanje o nastanku entomološke zbirke, je leta 1992 zadevo pojasnil takole: Zbirka je nastala v letih 1948-1951. Najprej je pripravil (profesor Janežič) seznam škodljivih metuljev in hroščev in drugih škodljivcev. Na podlagi tega seznama je naredil zbirko metuljev ljubiteljski zbiralec metuljev Rakovec, zbirko hroščev pa Gspan, oba iz Ljubljane. Oba sta predlagano zbirko še dopolnila s svojimi ljubljenci. Tako je nastala zbirka, ki so jo bili vsi veseli, je še povedal profesor. V 90-letih je bila zbirka prenovljena ter tudi občasno dopolnjena z novimi primerki in služi študijskim potrebam in znanstvenim namenom, del nje pa je mogoče najti tudi na spletni strani Fito info.

Dolga leta je bil predstojnik Inštituta za varstvo rastlin oziroma katedre na Biotehniški fakulteti, vse do svoje upokojitve leta 1978. Bil je mentor diplomantom, katerih ducat je pri njem opravil enoletno specializacijo.

Profesor Janežič je bil mirnega značaja in se ni nikoli silil v ospredje, znal pa je vedno poslušati sogovornika. Bil je velik rodoljub in je kljub svojemu širokemu jezikovnemu znanju, pisal predvsem v slovenskem jeziku ter na ta način veliko prispeval v jezikovno zakladnico in k sprotnemu reševanju terminoloških vprašanj na področju zdravstvenega varstva rastlin. Zaslužni profesor doktor F. Janežič je načel in rešil mnoga vprašanja s področja varstva rastlin ter se s svojim delom trajno zapisal v slovensko fitomedicino.

Naj mu bo večna zahvala!

4 LITERATURA

- Anon. 2008. Ob 100-letnici rojstva zasl. prof.dr. Franca Janežiča. *Acta agriculturae Slovenica* 91, 2: 483-485.
- Milevoj L., Maček J. 1998. Ob 90-letnici zaslužnega prof.dr. Franca Janežiča. *Research Reports* 71: 1-19.
- Milevoj L. 2008. Začetnik varstva rastlin pri nas: ob 100. letnici rojstva prof.dr. Franca Janežiča. *Kmeč. glas* 65, 40: 12.

UPORABA FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV PRI LJUBITELJSKEM PRIDELOVANJU VRTNIN

Stanislava FIŠER¹, Lea MILEVOJ², Majda ČERNIČ ISTENIČ³

^{1,2}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, travništvo in pašništvo, Ljubljana

³Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za agrometeorologijo, urejanje kmetijskega prostora ter ekonomiko in razvoj podeželja, Ljubljana

IZVLEČEK

Anketo z osebnim spraševanjem, ki je vsebovala 47 vprašanj, smo izvedli v nekaterih naseljih v občini Kranj v letu 2007. Anketirali smo 40 vrtničarjev, da bi preučili uporabo fitofarmaceutskih sredstev (FFS) na njihovih vrtovih, zlasti koliko jih izpopolnjuje svoje znanje o uporabi in delovanju FFS, ali pridobljene informacije razumejo in jih v praksi pravilno uporabljajo in v kakšni meri se dejansko zavedajo svojega vpliva na okolje. Raven izobrazbe anketirancev je dobra, vendar jim splošna izobrazba ne daje primerne strokovnega znanja s področja FFS. Ugotovili smo, da se 89,8 % anketirancev iz našega vzorca dodatno izobražuje o gojenju in varstvu rastlin. Kljub temu je njihovo poznavanje in razumevanje nekaterih strokovnih pojmov slabo. Le 50,0 % anketirancev šteje k rastlinam škodljivim organizmom tudi plevele, 37,5 % jih ne ve, kaj je korenca, 77,5 % ne pozna praga gospodarske škode, 62,5 % ne ve, kaj je kritično število škodljivcev. Da so lahko odgovorili na vprašanje smo jim morali pojasniti izraz fitotoksičnost, 37,5 % jih še ni slišalo za omejitve pri uporabi FFS, 32,5 % ne pozna vseh možnih načinov zastrupitve s FFS, 30,0 % jih nenatančno pripravlja škropilno brozgo. Kljub temu je 66,7 % anketirancev odgovorilo, da navodila o uporabi FFS preberejo natančno in v celoti, za odmerjanje FFS 67,5 % anketirancev uporablja primerno menzuro. Kar 82,1 % anketirancev se posvetuje s prodajalcem o primernosti FFS, 62,5 % pa o prepoznavanju bolezni in škodljivcev. Vse možne načine zastrupitve s FFS pozna 67,5 %, a le 7,5 % vprašanih izbere primerna osebna zaščitna sredstva. Le 10,0 % vprašanih ravna pravilno z ostanki škropilne brozge, 45,0 % jih ravna pravilno s pretečenimi sredstvi z vračanjem na prodajno mesto ali oddajo ob akciji zbiranja nevarnih odpadkov. Odpadno embalažo pravilno odstrani le 37,5 % anketirancev, čeprav jih 66,6 % meni, da so dovolj informirani o akcijah zbiranja nevarnih odpadkov.

Ključne besede: fitofarmaceutska sredstva, ljubiteljsko pridelovanje vrtin, pesticidi, uporaba, vrtničarstvo

ABSTRACT

THE USE OF PLANT PROTECTION PRODUCTS IN THE AMATEUR GARDENING

The questioner which we have carried out in several villages in Kranj community in the year 2007, has contained 47 questions. The answers of 40 gardeners that participated in our survey gave us an opportunity to study thoroughly the application of plant protection products (PPP) on their gardens. We were especially interested in the following issues: how they

¹ dipl. inž. agr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² prof. dr., redna profesorica za področje fitomedicine v pokoju, prav tam

³ doc. dr., za področje sociologije, prav tam

improve their knowledge about the use and the effect of PPP, do they properly apply the knowledge that they have gained, do they use PPP in practice correctly and how strongly they are aware of their influence on the environment by using PPP. The level of education of the participants is quite good, although the general education does not give them a proper technical or professional knowledge of PPP. We found out that 89.8 % of them extra educate themselves about plant breeding and protection. In spite of that fact, their knowledge and understanding of some technical terms are low. Only half of them thinks that the pests are also weeds, 37.5 % do not know what preharvest interval is, 77.5 % do not know threshold of economic damage, and 62.5 % of them do not know what the critical mass of harmful insects is. In order to enable our participants to answer the question, we had to explain them a term of phytotoxicity. 37.5 % of them have never heard of restriction to use PPP, 32.5 % of them are not aware of possible ways of toxication by PPP, and 30 % of them inaccurately prepare a spray deposit. In spite of all that 66.7 % of the questioned participants had answered that they read instructions for the use of PPP completely and accurately, but 67 % of them use an adequate measure for apportion of the concentration. 82.1 % of participants consult the proper use of PPP with a salesman, 62.5 % of them consult the recognising of diseases and pests. 67.5 % of them know all possible ways of toxication with PPP, but only 7.5 % of them choose appropriate personal protection garment or gear. A small amount of 10 % of the participants treat the spray deposit remains properly, 45 % handle with non-valid chemicals properly by returning the chemicals to the salesman or giving them away by organized collecting of waste. Only 37.5 % of participants remove the wasted package properly, though 66.6 % of them mean that they are informed about collecting of dangerous waste well enough.

Key words: gardening, gardens, diseases, pesticides, plant protection products, vegetable

1 UVOD

Hkrati s pojavom koncentracije posameznih rastlinskih vrst na določenem manjšem prostoru, se obsežneje pojavijo tudi bolezni in škodljivci rastlin. Za uspešno pridelavo se uporabljajo fitofarmaceutvska sredstva (FFS), ki pa imajo lahko negativne stranske učinke na okolje in prostor. Vse bolj smo okoljsko osveščeni, želimo živeti v zdravem okolju, piti neoporečno vodo, jesti zelenjavo brez ostankov FFS in težkih kovin. Širša strokovna javnost se zelo trudi, da bi z zakonskimi omejitvami uporabe FFS pridelava čim manj vplivala na okolje. 5. marca 2007 je začel veljati Zakon o spremembah in dopolnitvah zakona o fitofarmaceutvskih sredstvih. S tem zakonom so tudi vrtničarji deležni spremenjenega načina obravnave, saj je prodaja FFS omejena in usmerjena k uporabi, le ob določenem znanju iz varstva rastlin (Fitosanitarna ..., 2008).

Ugodna geografska lega Kranja in dobre prometne povezave so omogočile razvoj industrije in s tem širjenje mesta in priseljevanje delavcev. Novi deli mesta se širijo na ravnini Kranjskega in Sorškega polja. Danes zavzema Kranj 150,9 km² površine. Ima 53 209 prebivalcev. 59,20 % je starih med 20 in 60 let. 57,9 % starejših od 15 let ima najmanj srednješolsko izobrazbo (Statistični urad Republike Slovenije, 2008). Večji del mesta Kranja je pozidan z individualnimi hišami, kjer obstaja možnost uporabe zemljišča za vrt.

Z našo raziskavo smo želeli ugotoviti: v kakšni meri se ljudje dejansko zavedajo svojega vpliva na okolje, kakšna je uporaba FFS na vrtovih vrtničarjev, koliko ti izpopolnjujejo svoje znanje o uporabi in delovanju FFS, ali pridobljene informacije razumejo in jih v praksi pravilno uporabljajo.

2 MATERIAL IN METODE DE LA

Anketo z naslovom, Anketni list za kupce, ki so hkrati porabniki fitofarmaceutvskih sredstev (Štefan, 2002), smo priredili našim ciljem naloge (Fišer, 2008). Naši anketiranci so ljubiteljski

vrtnarji, medtem ko so kupci FFS tudi kmetje, ki se strokovno usposablajo v okviru Kmetijske svetovalne službe. Nekaj vprašanj smo preoblikovali nekaj pa smo jih tudi dodali. Vprašanja smo oblikovali v več tematskih sklopov. V prvem smo zbirali podatke o starosti, spolu in izobrazbi anketirancev ter velikosti obdelovalnih zemljišč. Z drugim sklopom vprašanj smo želeli ugotoviti kakšno je poznavanje strokovnih pojmov pri anketirancih; kako poznajo navodila o uporabi FFS in možne načine zastrupitve, kako so pozorni do priloženih navodil pri nakupu, kako natančno jih preberejo in kako se zavedajo možnih načinov zastrupitve. Nadalje smo poizvedovali o pomembnosti podatkov v navodilu za uporabo FFS in kateri dejavniki vplivajo na nakup FFS. Naslednji sklop vprašanj smo namenili upoštevanju navodil za uporabo osebnih zaščitnih sredstev pri delu s FFS; pri vprašanih o uporabi herbicidov, nas je zanimalo območje uporabe, pogostnost zatiranja plevela ter uporaba skupine herbicidov glede na obseg delovanja; pri vprašanih uporabe FFS za zatiranje bolezni in škodljivcev smo vpraševali po območju uporabe; pri vprašanih o pojavu bolezni in škodljivcev, smo vpraševali po prepoznavanju simptomov bolezni in škodljivcev, ravnanju ob pojavu bolezni in škodljivcev ter razkuževanju orodja za delo na vrtu; naslednji sestav vprašanj smo namenili odločitvi o potrebi in primernosti uporabe FFS, stalnosti nakupa in vzrokih za menjavo nakupa FFS ter uporabi doma pripravljenih škropiv. Pri vprašanih o upoštevanju navodil o varni rabi FFS, nas je zanimala natančnosti odmerjanja FFS, vrsta menzure, vrsta naprave za nanašanje FFS, upoštevanje omejitev pri škropljenju na istem zemljišču in ocena ustrezne poškopljenosti rastline. Naslednji sklop smo namenili pogostnosti in letnemu času škropljenja. Zadnji sklop pa je bil namenjen shranjevanju FFS, odstranjevanju embalaže FFS, ravnanju z ostanki škropljenih brozg, ravnanju po preteku roka veljavnosti FFS ter obveščenosti o akcijah zbiranja nevarnih odpadkov.

Zaradi obsežnosti anketnega vprašalnika smo se pri pridobivanju podatkov odločili za metodo osebnega spraševanja. Anketirance smo obiskali na domovih v jesenskem času leta 2007. Izbirali smo tako velike hišne parcele, da so jih lahko namenili za vrtove. Pripravljenost sodelovanja potencialnih anketirancev je bila majhna.

Zbrane podatke smo vnesli in uredili v programu Excel in jih nato analizirali s programom SPSS (Statistical Package for Social Sciences) ob uporabi osnovnih opisnih statistik.

3 REZULTATI

V anketi so sodelovali anketiranci različnih starosti. Večji delež anketirancev predstavljajo starejši od 47 let. To je populacija, ki se upokojuje in svoj prosti čas namenja vrtnarjenju. Mlajša populacija je zaposlena, vrtove ureja svojemu prostemu času primerno (trata) in ne uporablja FFS, zato v anketi niti niso mogli sodelovati. Med sodelujočimi je 14 moških, kar predstavlja 35,0 % in 26 žensk oz. 65,0 % vseh anketirancev. Anketiranci so dosegli različno stopnjo izobrazbe: 30,0 % jih ima 2- ali 3- letno poklicno šolo, 32,0 % jih ima 4- letno srednjo šolo, kar skupaj predstavlja 62,0 % anketirancev s srednješolsko izobrazbo. Le 12,5 % jih ima doseženo visokošolsko oziroma fakultetno izobrazbo. Končano srednjo kmetijsko šolo ima 5,1 % anketiranih. Dodatna znanja iz vrtnarstva pridobiva s pomočjo seminarjev, knjig, časopisnih člankov ter radijskih in televizijskih oddaj 89,8 % anketirancev. Le 5,1 % vprašanih ne išče nobenih novih znanj.

3.1 Poznavanje strokovnih pojmov

Le 50,0 % vprašanih je prepoznalo rastlinam škodljive organizme kot povzročitelje bolezni, škodljivce in pleveli. Ostali so se odločili za odgovora rastlinski škodljivci in/ali povzročitelji rastlinskih bolezni, medtem ko so izločili plevela, kot rastlinam škodljive organizme.

Karenčna (tudi čakalna ali varstvena čakalna) doba je najkrajši čas, ki mora preteči med zadnjo uporabo FFS na rastlinah in njihovim pravilom (žetvijo). Anketirance smo prosili za dopolnitev vprašanja. Za delno pravilen odgovor smo ocenili odgovore, ki so vsebovali dobo strupenosti pripravka, vendar niso opredelili, kdaj se ta konča. Ker sta za pojem karenca v

uporabi tudi besedi čakalna ali varstvena čakalna doba, smo vprašanje ponovili, le da smo tokrat uporabili besedo varstvena čakalna doba.

Preglednica 1: Razumevanje strokovnih pojmov med anketiranci.

Table 1: The knowledge and understanding of some technical terms.

Strokovni pojem	Delež celote (%)			
	Pravilno	Delno pravilno	Nepravilno	Brez odgovora
Fitofarmaceutvska sredstva	85,0	0	12,5	2,5
Karenca	5,0	57,5	10,0	27,5
Varstvena čakalna doba	10,0	27,5	15,0	47,5
Prag gospodarske škode	12,5	10,0	27,5	50,0
Kritično število škodljivcev	12,5	25,0	27,5	35,0

Prag gospodarske škode je stopnja napada škodljivca, ki ga je še mogoče prenesti. To je podatek o populaciji škodljivega organizma, ki bi, če ga ne bi zatrli, povzročil škodo v takšnem obsegu oziroma višini, ki je enaka stroškom zatiranja. Za delno pravilen odgovor, smo ocenili odgovore, ki so vsebovali delno povezavo med povzročeno škodo in stroški. Kritično število škodljivcev je odvisno od vrste škodljivca, njegovega življenjskega kroga ter od rastline in njenega odziva. To je različno glede na škodljivca in gojeno rastlino. Za delno pravilne odgovore smo ocenili tiste, ki so omenjali preveliko število škodljivcev, da jih je takrat težje zatirati ter povzročijo večjo škodo.

3.2 Navodila o uporabi FFS

Preglednica 2: Pozornost do priloženih navodil o uporabi FFS ob nakupu, natančnost branja navodil, upoštevanje omejitev pri škropljenju, natančnost pri pripravi škropilne brozge, možni načini zastrupitve pri delu s FFS, vrsta oblačil in stopnja zaščite pri delu s FFS.

Table 2: The attention to the enclosed instructions of PPP at purchase, accurate and complete reading of instructions, the consideration of restrictions in using PPP, accurate measurement of the concentration, the knowledge of possible ways of toxication with PPP during the usage and ways of personal protection by applying PPP.

Navodila o uporabi FFS			
Pozornost do priloženih navodil o uporabi FFS pri nakupu	je pozoren	ni pozoren	občasno pozoren
	80 %	15 %	5 %
Natančnost branja priloženih navodil o uporabi:	v celoti prebere	delno oz. na hitro	brez odgovora
	65 %	32,5 %	2,5 %
Upoštevanje omejitev pri škropljenju na istem zemljišču:	da	ne	še ni slišal za omejitve
	55,0 %	7,5 %	37,5 %
Natančnost odmerjanja pri pripravi škropilne brozge:	čimbolj natančno po navodilih	približen odmerek	včasih natančno, včasih približno
	70,0 %	27,5 %	2,5 %
Možni načini zastrupitve pri delu s FFS:	zaužitje preko dihal, preko kože	izbrani samo dve možnosti	izbrana samo ena možnost:
	67,5 %	22,5 %	10,0 %
Vrsta in uporaba osebnih zaščitnih sredstev			
Oblačila, ki so ponošena in niso za drugo rabo	Oblačila, ki se operejo v pralnem stroju	Posebna oblačila za enkratno uporabo	Na to nisem pozoren
37,5 %	55,0 %	2,5 %	5,0 %
Stopnja zaščite			

Popolna zaščita	Brez zaščite dihal	Brez zaščite oči	Rokavice, škornji	Rokavice	Povsem brez zaščite
7,5 %	30,0 %	10,0 %	25,0 %	20,0 %	7,5 %

Pri odmerjanju FFS uporablja primerno menzuro 67,5 % anketirancev, drugi jih odmerjajo bolj ali manj po občutku.

Preglednica 3: Dejavniki, ki vplivajo na odločitev pri nakupu FFS.

Table 3: Factors influencing the decision of PPP purchases.

Dejavnik	Zelo pomembno (%)	Pomembno (%)	Niti pomembno niti nepomembno (%)	Nepomembno (%)
Cena	12,5	20,0	42,5	25,0
Strupenost	42,5	50,0	0	7,5
Učinkovitost	70,0	27,0	0	2,5
Količina pakiranja	15,0	45,0	32,5	7,5
Vrsta embalaže	0	10,0	35,0	55,0
Proizvajalec	10,0	10,0	17,5	62,5

Preglednica 4: Pomembnost podatkov v navodilu o uporabi.

Table 4: The importance of instructions' specification for use.

Podatki o:	Zelo pomembno (%)	Pomembno (%)	Niti pomembno niti nepomembno (%)	Nepomembno (%)
spektru delovanja	37,5	52,5	7,5	2,5
karenčni dobi	62,5	25,0	12,5	0
strupenosti za čebele	47,5	35,0	15,0	2,5
omejitvi uporabe	30,0	50,0	17,5	2,5
fitotoksičnosti	69,2	15,3	15,3	0
aktivni snovi na naravni osnovi	31,5	28,9	34,2	5,2
aktivni snovi na sintetični osnovi	21,6	35,1	37,8	5,4
priporočenem odmerku	57,5	22,5	17,5	2,5

3.3 Uporaba herbicidov

Preglednica 5: Območje uporabe herbicidov, pogostnost zatiranja plevla ter uporaba skupine herbicidov glede na obseg delovanja.

Table 5: The area applied by herbicides, frequency of their application and types of herbicides used.

Območje uporabe sredstev za zatiranje plevla	Ne uporabljajo	Na peščenih in tlakovanih površinah	Na zelenjavnem vrtu	Na peščenih in tlakovanih površinah in na trati	Brez odgovora
Delež celote (%)	32,5	47,5	2,5	15,0	2,5
Sredstvo za zatiranje plevla	Totalni herbicid	Selektivni herbicid	Mehanično z motiko	Totalni in selektivni herbicid	Totalni herbicid in mehanično
Delež celote (%)	27,5	2,5	52,5	2,5	15,0
Pogostnost zatiranja plevla	0 × letno	1 × letno	2 × letno	3 × letno	Več kot 3 × letno
Delež celote (%)	2,9	31,4	31,4	14,3	28,6

3.4 Pojav bolezni in škodljivcev

Kar 60,0 % anketirancev uporablja FFS za zatiranje povzročiteljev bolezni in škodljivcev tudi na zelenjavnem vrtu in na sadnem drevju, 67,5 % pa na okrasnih rastlinah. Od tega jih le 20,0 % uporablja FFS samo za varstvo okrasnih rastlin.

Preglednica 6: Prepoznavanje simptomov, ukrepi ob pojavu povzročiteljev bolezni in škodljivcev.
Table 6: Identification of diseases and pests symptoms, measures in case of plant illness and pests.

Prepoznavanje simptomov	Delež celote (%)	Ukrep	Delež celote (%)
Ugotovi sam	22,5	Okužene dele rastlin odstrani v zabojnik za smeti	40,0
Vpraša sosede, znance	7,5	Okužene dele rastlin odstrani na kompostni kup	7,5
Vejico s simptomi pokaže prodajalcu FFS	15,0	Okužene dele rastlin odstrani in zažge	7,5
Ugotovi sam, vpraša sosede znance	7,5	Nemudoma poškropi s FFS	10,0
Ugotovi sam, simptome opiše prodajalcu FFS	5,0	Okužene dele rastlin odstrani v zabojnik za smeti, ostalo poškropi	22,5
Ugotovi sam, list ali vejico s simptomi pokaže prodajalcu FFS	17,5	Okužene dele rastlin odstrani na kompostni kup, ostalo poškropi	12,5
Vpraša sosede, znance, simptome opiše prodajalcu FFS	7,5		
Simptome opiše prodajalcu FFS, pokaže list ali vejico s simptomi	17,5		

Orodja nikoli ne razkuži (očisti) 12,5 % anketirancev, drugi ga bolj ali manj pogosto operejo, le 7,5 % anketirancev je odgovorilo, da orodje razkuži, če opazi znamenja bolezni ali škodljivce na svojih gojenih rastlinah.

Preglednica 7: Odločanje o ustreznosti oz. zamenjavi FFS.
Table 7: Decision-making about PPP usage and its alternation.

Odločanje o primernosti sredstva glede na:	Delež celote (%)	Kupi vedno isto FFS	Delež celote (%)
lastne izkušnje	12,8	Da	67,5
sporočila sredstev javnega obveščanja	5,2	Ne, zamenja jih vsako leto	25,0
nasvet prodajalca	33,3	Zamenja občasno	7,5
lastne izkušnje in nasvet prodajalca	38,5	Vzroki za menjavo FFS	Delež celote (%)
sporočila sredstev javnega obveščanja in nasvet prodajalca	7,6	rezistenca	20,0
lastne izkušnje, sporočila sredstev javnega obveščanja in nasvet prodajalca	2,6	nasvet prodajalca - svetovalca	32,5
		Brez odgovora	47,5

Šele takrat, ko opazijo bolezen ali škodljivca, seže po FFS 62,5 % anketirancev medtem ko drugi svoje rastline škropijo tudi preventivno.

3.5 Shranjevanje in odstranjevanje FFS

Najpogostejše (50,0 %) mesto shranjevanja FFS pri anketirancih je lopa z orodjem, 32,5 % anketirancev jih shranjujejo na polici v garaži, 10,0 % pa v posebni omari skupaj s čistili, le 7,5 % anketirancev ima ta sredstva spravljena povsem ločeno od vsakodnevne uporabe.

Preglednica 8: Rokovanje anketirancev s FFS po preteku roka uporabe, poraba ostanka pri škropljenju in ravnanje z odpadno embalažo.

Table 8: Handling with non-valid chemicals and wasted package.

Rokovanje s FFS, po preteku roka uporabe	Delež celote (%)	Način porabe ostanka pri škropljenju	Delež celote (%)	Ravnanje z odpadno embalažo	Delež celote (%)
Uporabi jih v povečanem odmerku	15,0	Še enkrat poškropi po že obdelani površini	40,0	V gospodinjiski zabojnik	45,0
Vrne v prodajalno, kjer jih je kupil	30,0	Nič ne ostane	2,5	V akciji zbiranja nevarnih odpadkov	25,0
Vrže jih v zabojnik za smeti	22,5	Zlije na zemljo ali travo	25,0		
Vsebinsko izlije v odtok, embalažo vrže v zabojnik za smeti	2,5	Zlije v odtok	5,0	Vrne v prodajalno s FFS	12,5
Nič ne ostane	15,0	Shrani za naslednje škropljenje	20,0	Vrže v gospodinjiski zabojnik ali zažge	17,5
Nadaljuje z uporabo po navodilih	10,0	Še enkrat razredči in poškropi po že obdelani površini	7,5		
Uporabi v povečanem odmerku, vrže v smeti	2,5				
Brez odgovora	2,5				

V to, da so ustrezno obveščeni o akcijah zbiranja nevarnih odpadkov, je prepričanih. 66,6 % anketirancev.

4 SKLEPI

Pregled literature je pokazal, da vrtičkarji pri oskrbi rastlin na svojih vrtovih mnogokrat ne ravnaajo ustrezno niti nimajo za to primerne znanja (Maček, 1987). Na podlagi anketne raziskave, opravljene med prebivalci na območju Kranja, ki imajo vrt in na njem uporabljajo FFS, lahko sklenemo naslednje:

1. Dosežena stopnja izobrazbe je pri uporabnikih FFS dobra, saj jih ima le četrtina samo osnovnošolsko izobrazbo, medtem ko ima večina (62,0 %) končano srednješolsko ali visokošolsko izobrazbo. Kljub temu, da velika večina (89,8 %) anketirancev dopolnjuje svoje znanje o gojenju in varstvu rastlin je njihovo poznavanje in razumevanje nekaterih strokovnih pojmov zelo slabo. Pri opredelitvi rastlinam škodljivih organizmov je popolnoma pravilen odgovor izbralo le 50,0 % anketirancev, 12,8 % jih je menilo, da so FFS namenjena izključno za zatiranje glivičnih bolezni, 37,5 % jih ni vedelo kaj pomeni pojem karence, 77,5 % jih ne pozna praga škodljivosti, 62,5 % ne ve, kaj je kritično

- število škodljivcev in pojasniti smo jim morali izraz fitotoksičnost, da so lahko odgovorili na zastavljeno vprašanje.
2. Uporaba FFS je razširjena na vseh zemljiščih. Herbicide uporablja 66,6 % anketirancev, 60,0 % uporablja FFS na zelenjavnem vrtu, 60,0 % na sadnem drevju, le 20,0 % pa samo na okrasnih rastlinah.
 3. Pri uporabi FFS nismo ugotovili primerne znanja in odgovornosti. Vseh možnih načinov zastrupitve ne pozna 32,5 % anketirancev, le 7,5 % jih izbere primerna osebna zaščitna sredstva. Navodila natančno prebere le 66,7 % vprašanih, za odmerjanje FFS jih le 67,5 % uporablja ustrezno menzuro, škropilno brozgo približno (»na oko«) pripravi 30,0 % vprašanih. Samo 55,0 % jih upošteva omejitve uporabe FFS, kar 37,5 % pa jih za omejitve še ni slišalo.
 4. Ravnanje z ostanki pripravljene škropilne brozge, z ostanki FFS, ki jim je pretekel rok uporabe in z odpadno embalažo je pogosto v neskladju z dobro vrtnarsko prakso in z zakonodajo. Le 10,0 % jih ravna pravilno z ostanki škropilne brozge, 45,0 % jih ravna pravilno s pretečenimi FFS in le 37,5 % jih ravna pravilno z odpadno embalažo.
 5. Obveščenost o akcijah zbiranja nevarnih odpadkov je v 66,6 % zadostna in le 20,5 % jih meni, da so premalo obveščeni, drugi se glede tega niso znali opredeliti.
 6. Vzpodbudno pa je, da se 62,5 % anketirancev za prepoznavanje simptomov obrne na prodajalca, 75,0 % jih uporabi FFS, ker se je bolezen že razširila, 82,1 % se jih posvetuje s prodajalcem o ustreznosti sredstva za varstvo rastlin.

Rezultati ankete kažejo, da je najprimernejši ukrep za zmanjševanje uporabe FFS omejitve prodaje FFS. Prav tako pa je potrebno posebno pozornost nameniti izobraževanju in usposabljanju prodajalcev FFS, da bodo lahko primerno svetovali kupcem in jih opozarjali na škodljive vplive nestrokovne rabe FFS.

5 LITERATURA

- Fišer S. 2008. Uporaba fitofarmaceutskih sredstev pri ljubiteljskem pridelovanju vrtnin. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 40 str.
Fitosanitarna uprava RS.
<http://www.furs.si> (25.1.2008)
- Harmuth P. 1995. Dokaz o preizkusu znanja iz varstva rastlin: poljedelstvo, zelenjadarstvo, sadjarstvo, vinogradništvo, pridelovanje okrasnih rastlin. Radovljica. Didakta: 184 str.
- Iskra D. 1989. Seznanjenost prebivalstva s fitofarmaceutskimi sredstvi in njihova uporaba na območju občine Jesenice. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 60 str.
- König K., Klein W., Grabler W. 1995. Strokovna izobrazba iz varstva rastlin: Pripomoček za preizkus znanja iz varstva rastlin. 5. predelana izdaja. Radovljica, Didakta: 108 str.
- Maček J. 1987. Kaj vedo kmetje in vrtničarji o varstvu rastlin, lastnostih fitofarmaceutskih sredstev in koliko izdajo zanje v nekaterih slovenskih občinah. *Sodobno kmetijstvo*, 24, 1: 37 - 41
- Maček J. 1988. Oris ekoloških problemov v kmetijstvu. *Sodobno kmetijstvo*, 21, 3: 99 - 105
- Milevoj L. 2007. Kmetijska entomologija. Ljubljana. Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 182 str.
- Slavec A. 1997. Geografija Kranja. Doktorska disertacija. Ljubljana, Filozofska fakulteta v Ljubljani, Oddelek za geografijo
Statistični urad Republike Slovenije.
<http://www.stat.si> (17.1.2008)
- Štefan M. 2002. Anketni list za kupce, ki so hkrati porabniki fitofarmaceutskih sredstev. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo (neobjavljeno, diplomska raziskava v izdelavi)
- Vardjan F. 1987. Vrtno zelenjadarstvo. 4. dopolnjena izdaja. Ljubljana, Kmečki glas: 285 str.

KEMIJSKA TVEGANJA IZDELKOV IZ ŽIT; OSTANKI FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV IN MIKOTOKSINI

Boris KOVAČ¹

Mlinotest d.d., Ajdovščina

IZVLEČEK

Podan je pregled možnih kemijskih tveganj, značilnih za žita in izdelke iz žit. Izpostavljeni so ostanki pesticidov in mikotoksini. Varnost izdelkov se zagotavlja s sistematičnimi postopki, ki zajamejo vse pridelovalne in predelovalne faze od varstva rastlin med rastjo, do predelave in distribucije končnih izdelkov. Nevarnosti, ki jih prinašajo surovine lahko predstavljajo nesprejemljivo stopnjo tveganja za potrošnika. Zagotavljanje varnosti vključuje aktivnosti in kontrole, ki so potrebne za obvladovanje proizvodnega procesa od razvoja, nabave surovin, izdelave izdelka do njegove prodaje. Primarna proizvodnja je integralni del varnosti živil. Kemijskih onesnaževalcev, ki izvirajo iz slabe kmetijske prakse z nadaljnjimi postopki v predelavi živil ni mogoče odstraniti in predstavljajo resno tveganje. Odkrivanje teh tveganj v surovinah in izdelkih je finančno zahtevno, zato je nujno potrebno preventivno ukrepanje v pridelavi s ciljem čim manjše verjetnosti pojavljanja.

Ključne besede: izdelki iz žit, kemijska tveganja, mikotoksini, onesnaževalci, ostanki pesticidov, žita.

ABSTRACT

CHEMICAL HAZARDS OF CEREAL PRODUCTS; RESIDUES OF PESTICIDES AND MYCOTOXINS

The article discusses possible chemical hazards typical for cereals and cereal products; pesticides and mycotoxins are focused. Food safety could be obtained by systematical activities in all phases in primary production, processing and distribution. Hazards from raw material may pose an unacceptable health risk to the consumer. Food safety activities, control points and critical control points should be managed in all levels of the process. Primary production is an integral part of the food supply chain. Chemical hazards originated from primary production should not be reduced by procesing. Determination of chemical hazards in raw materials and in final products mean high level of expences, better practice are prevention activities in primary production.

Key words: cereals, cereal product, chemical hazard, contaminant, mycotoxins, pesticide residues.

1 UVOD

Z uživanjem hrane smo dnevno izpostavljeni morebitnim onesnaževalcem živil. Dolgotrajna izpostavljenost ostankom pesticidov in mikotoksinom lahko povzroča razvojne in hormonske motnje, bolezni in deformacije. Žita in izdelki iz žit predstavljajo osnovno hrano pretežnega dela razvitega sveta, zato je njihova neoporečnost še posebej pomembna. Za varnost izdelkov,

¹ doc. dr., univ. dipl. ing. živ. tehnol., Tovarniška 14, Ajdovščina, UP Visoka Šola za zdravstvo, Polje 42, Izola, e-mail b.kovac3@guest.arnes.si

ki jih daje v promet, je odgovoren proizvajalec. Varnost izdelkov iz žit se zagotavlja s sistematičnimi postopki, ki zajamejo vse pridelovalne in predelovalne faze od varstva rastlin med rastjo, do predelave in skladiščenja končnih izdelkov. Surovinam in vsaki fazi predelave je potrebno opredeliti tveganja, ki v tej fazi nastajajo. Ta so lahko fizikalna, kemijska ali mikrobiološka. Tveganjem je potrebno določiti resnost, težavnost odkrivanja in verjetnost pojavljanja. Zagotavljanje varnosti vključuje aktivnosti in kontrole, ki so potrebne za obvladovanje proizvodnega procesa od razvoja, nabave surovin, izdelave izdelka do njegove prodaje. Navadno fizikalna tveganja v žitih in mlevskih izdelkih ne predstavljajo resnega tveganja za zdravje potrošnika. Tujki, ki so pomešani med žitnimi zrni, se odstranijo pred mletjem v mlinski čistilnici. Mlinska čistilnica obsega stroje za izločevanje peska in kovinskih delcev. Če tujkov ne bi odstranili, bi poškodovali mlinske valje. Fizikalna tveganja, značilna za mlevske izdelke, so posledica tujkov, ki zaidejo v izdelke naknadno med transportom, skladiščenjem v silosih ali med pakiranjem. Najpomembnejša kemijska tveganja surovin za mletje so posledica slabe pridelovalne prakse in neupoštevanja sodobnih agrotehničnih načel, vključno z nepravilnim skladiščenjem. Na ta tveganja mlevska industrija nima vpliva, zato mora z ustreznim sistemom kontrole vhodnih surovin tveganja zaznati in take surovine izločiti. Kemijska tveganja, značilna za žita, nastopajo v obliki onesnaževalcev iz štirih večjih skupin. To so:

- mikotoksini,
- ostanki pesticidov,
- težke kovine in radioaktivnost,
- alkaloidi iz semen strupenih plevelov.

1.1. Mikotoksini

Za ljudi in živali so mikotoksini izredno strupene snovi, ki povzročajo mikotoksikoze z neposrednimi znamenji v obliki zastrupitev in kroničnimi znamenji v obliki obolenj jeter ali aktiviranja tumorjev. Mikotoksini, značilni za žita, so sekundarni metaboliti gliv *Aspergillus flavus*, *ochraceus* in *versicolor*, *Penicilium citrinum*, *citrioviride*, *cycloppium*, *martensii*, *patulum* in *puberulum* ter rodu *Fusarium*. Nekatere glive lahko rastejo med rastno dobo na žitu v obliki rastlinskih bolezni. Večina gljiv kontaminira dozorevajoče ali že dozorelo žitno zrno zaradi slabih vremenskih razmer tik pred spravilom ali med skladiščenjem zrna zaradi presežene vlažnosti. Ob rasti na žitih ali žitnih izdelkih te glive lahko tvorijo aflatoksine B1, B2, G1, G2, ohratoksin, sterigmatocistin, patulin, penicilinsko kislino, deoksivivalenol in zearalenon. Zgornje mejne vrednosti teh kontaminantov določa Uredba (ES) št. 1881/2006 (Uredba, 2006).

S spremljanjem vremenskih razmer ob dozorevanju in spravilu žit (dolgotrajno sušno obdobje ali nasprotno dolgotrajno deževno obdobje) lahko grobo ocenimo verjetnost kontaminacije žita z glivami in verjetnost prisotnosti mikotoksinov. Če je rizičnost letine in področja pridelave velika in na to kažejo tudi hitro določljivi kvalitetni indikatorji, na primer visoka vsebnost vode ali nizko padajoče število pri pšenici, zastopanost mikotoksinov testiramo sistematično.

Mnogi mikotoksini so kot nevarni znani že zelo dolgo, nekatere šele odkrivamo. Eden od mikotoksinov, ki do nedavnega, tudi zaradi nizkih koncentracij v katerih se lahko pojavlja in nerazvitosti ustrezne analitike bil znan, je DON (4-Deoxynivalenol, vomitoxin, dehydronivalenol, RD-toxin). Izločajo ga nitaste glive rodu *Fusarium*; *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*. Glive kontaminirajo zeleno rastlino, izjemoma ne dovolj suha zrna. Oralna doza 0.05 – 1 mg/kg; povzroča bruhanje pri nekaterih poskusnih živalih tudi zastoj prebave, oralna doza polovične smrtnosti (LD₅₀) znaša 46 mg/kg za miš (European commission, 1999). Mikotoksin zearalenon je znan že dolgo, medtem ko sta bila Fumonisin

B1, Fumonisin B2 odkrita in spoznana za škodljiva relativno pozno. Ti mikotoksini so metaboliti nitaste glive rodu *Fusarium*, za razliko od DON-a jih glive praviloma ne izločajo med rastjo na rastlini, ampak med rastjo na premalo suhih zrnih po obiranju ali med skladiščenjem. So potencialno kancerogeni in teratogeni. Pogoj za pojav je presežena vlažnost; to je nad 16%. Tveganje obvladujemo s kontrolo vsebnosti vode v žitih in ustreznim dosuševanjem.

1.2. Pesticidi

Ostanki pesticidov ter produktov njihove razgraditve so zelo pogosto in nevarno tveganje. Razlog za onesnaženje žita s pesticidi je lahko različen:

- varstvo rastlin med rastjo pred rastlinskimi boleznimi, škodljivci ali zatiranje plevelov,
- zatiranje škodljivcev med skladiščenjem,
- zatiranje insektov in glodalcev.

Za posamezne skupine kmetijskih pridelkov in živil so določene zgornje dopustne mejne vrednosti vsebnosti ostankov pesticidov. Vsi pesticidi s seznama niso trenutno v uporabi v obliki fitofarmaceutskih sredstev. Kljub temu, da nedovoljeni pesticidi niso več v prometu in jih jenenemogoče kupiti, se zaradi previdnosti opravlja tudi monitoring že prepovedanih pesticidov. Obvladovanje tveganja zastopanosti pesticidov je za žitno predelovalno industrijo relativno težko. Skoraj nemogoče in ekonomsko neracionalno je analizirati pridelek z vsake posamezne njive. Za varnost pred pesticidi je bistvenega pomena dobra kmetijska pridelovalna praksa slehernega pridelovalca, to je uporaba le predpisanih koncentracij fitofarmaceutskih sredstev in tehnična brezhibnost naprav za nanašanje sredstev na rastline. Pri varstvu rastlin kakor tudi uničevanju škodljivcev je potrebno upoštevati karenčne dobe. Zgornje mejne vrednosti določa Uredba 396/2005 o mejnih vrednostih ostankov pesticidov (Uredba, 2005) in pregledno navaja DG Sanco v svoji podatkovni bazi (DJ Sanc., 2008). Edini mehanizem, s katerim žitno predelovalna industrija lahko obvladuje tveganje zastopanosti pesticidov v vhodni surovini, je redni monitoring ostankov pesticidov in nakup surovin pri zanesljivih dobaviteljih, ki upoštevajo dobro pridelovalno prakso. Alternativa konvencionalno pridelanim žitom so biotično pridelana žita, kjer so ostanki pesticidov precej manjši ali jih sploh ni, obenem pa naj bi se ne povečalo tveganje prisotnosti mikotoksinov (FAO, 2000).

2 MATERIALI IN METODE

Študija je bila izvajana na naslednjem poskusnem materialu:

- 18 vzorcih pšenice, letine žetve pšenice 2006, 2007 in 2008, poreklo pšenice Slovenija in Madžarska,
- 7 vzorcih koruze, letini žetve koruze 2006, 2007 in 2008, poreklo koruze Slovenija in Madžarska,
- 3 vzorcih ajde, letini žetve 2007, in 2008, poreklo ajde Madžarska.

V vzorcih smo spremljali ostanke 180 pesticidov in naslednje mikotoksine: deoxynivalenol (DON), fumonizin B1, fumonizin B2, zearalenol, aflatoksin B1, aflatoksin B2, aflatoksin G1, aflatoksin G2, ohratoksin A, toksin (T-2). Ugotavljali smo sledove in morebitno prekoračenost še dopustne mejne vrednosti. Sled smo definirali kot zastopanost določene snovi, nad mejo, ki jo zazna aparatura (meja določitve) in zgornjo dopustno mejo koncentracije, ki jo dopušča zakonodaja. Analize so se izvajale v laboratorijih inštituta Neutron iz Modene v Italiji, laboratorij je certificiran in akreditiran za izvajanje analiz, uporabljene SIST EN in DIN EN kromatografske metode določanja so akreditirane.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V tabelah zaradi preglednosti niso navedeni vsi preiskovani pesticidi, vseh testiranih pesticidov je bilo 180. V vzorcih preiskovanih žit so bili najdeni navedeni sledovi nekaterih mikotoksinov in pesticidov, prekoračitve mejne vrednosti pri nobenem vzorcu ni bilo. Če bi mejna vrednost bila presežena, bi tako žito moralo biti izločeno iz prometa. Število vseh vzorcev v študiji je bilo 24. Rezultate analiz smo primerjali z rezultati interne baze podatkov analitskega laboratorija Neutron. Po podatkih te baze si pojavljanje sledov najpogostejših onesnaževalcev determiniranih v 3851 vzorcih pšenice in izdelkov iz pšenice iz območja EU analiziranih med januarjem 2005 in majem 2007 sledi po naslednjem vrstnem redu: DON, pirimifos-metil, fosfin, malation, diklorvos, deltametrin, ohratoksin A, klormekvat, malaokson, zearalenol. Pojavljanje najpogostejših onesnaževalcev determiniranih v 11925 vzorcih koruze in izdelkih iz koruze iz področja EU analiziranih med januarjem 2005 in majem 2007 si sledi po naslednjem vrstnem redu: thiamethoksam, fumonizin B1, fumonizin B2, aflatoksin B1, fipronil, DON, zearalenol, aflatoksin B2, pirimiphos-metil.

Preglednica 1: Sledovi onesnaževalcev v ajdi*

onesnaževalec	meja določitve v $\mu\text{g/kg}$	število vzorcev z zaznanimi sledovi	**mejna vrednost v $\mu\text{g/kg}$
deoksinivalenol (DON)	50	1	ni še definirana
fumonizin B1	50		ni še definirana
fumonizin B2	50		ni še definirana
zearalenol	5	1	100
aflatoksin B1	0,05		5
aflatoksin B2	0,05		/
aflatoksin G1	0,05		/
aflatoksin G2	0,05		/
vsota B1+B2+G1+G2			10
ohratoksin A	0,1	1	5
toksin T-2	20		ni še definirana

*prazno polje: vrednost je bila pod mejo določljivosti; sledov ni

** še sprejemljiva vrednost sledov glede (Uredba, 2006) in (Uredba, 2005)

Preglednica 2: Sledovi onesnaževalcev v koruzi*

onesnaževalec	meja določitve v $\mu\text{g/kg}$	število vzorcev z zaznanimi sledovi	**mejna vrednost v $\mu\text{g/kg}$
deoksinivalenol (DON)	50	2	1750
fumonizin B1+B2	50		4000
zearalenol	5	2	350
aflatoksin B1	0,05		5
aflatoksin B2	0,05		/
aflatoksin G1	0,05		/
aflatoksin G2	0,05		/
vsota B1+B2+G1+G2			10
ohratoksin A	0,1	1	5
toksin (T-2)	20		ni še definirana
malation	5	1	8

*prazno polje: vrednost je bila pod mejo določljivosti; sledov ni

** še sprejemljiva vrednost sledov glede na (Uredba, 2006) in (Uredba, 2005)

Preglednica 3: Sledovi onesnaževalcev v pšenici*

onesnaževalec	meja določitve v $\mu\text{g/kg}$	število vzorcev z zaznanimi sledovi	**mejna vrednost v $\mu\text{g/kg}$
deoksinivalenol (DON)	50	3	1250
fumonizin B1+B2	50		ni še definirana
zearalenol	5		350
aflatoksin B1	0,05	1	2
aflatoksin B2	0,05		/
aflatoksin G1	0,05		/
aflatoksin G2	0,05		/
vsota B1+B2+G1+G2			4
ohratoksin A	0,1	1	5
toksin (T-2)	20		ni še definirana
pirimifos metil	5	2	5

*prazno polje: vrednost je bila pod mejo določljivosti; prisotnih sledov ni

** še sprejemljiva vrednost sledov glede na (Uredba, 2006) in (Uredba, 2005)

Iz primerjave rezultatov ugotovimo, da se potencialni onesnaževalci najdeni v vzorcih študije pojavljajo kot onesnaževalci tudi na večjem vzorcu analiz inštituta Neutron. Iz rezultatov ugotovimo, da je DON »aktualen« onesnaževalec tako pšenice kot tudi izdelkov iz pšenice. Rezultati kažejo, da se sledovi pojavijo skoraj v slabi petini preiskovanih vzorcev pšenice. Koncentracije DONa so neznatne (iz tabel ni razvidno), pojav DONa je v neposredni korelaciji z vremenskimi razmerami ob dozorevanju pšenice, zato je toksin najden v vzorcih žit letine 2006 in 2007. V posameznih vzorcih pšenice je bilo zaznati sledove aflatoksina B1 in ohratoksina A, v 2 vzorcih so tudi sledovi uporabe insekticida pirimifos metila. V vzorcih koruze smo zasledili DON (2 vzorci), zearalenol in ohratoksin A, v enem vzorcu so bili zaznani sledovi pesticida malationa; iste mikotoksine je bilo zaznati tudi v enem vzorcu ajde.

4 SKLEPI

Pravočasno ugotavljanje morebitnih preseženih koncentracij onesnaževalcev je ključ do varnosti hrane. Študija je zajela 28 vzorcev, v nobenem preiskovanem vzorcu količina sledov ni bila nad dovoljeno mejo. Sledovi pesticidov in mikotoksinov odražajo izvajanje dobre kmetijske prakse v pridelovalni verigi. Potencialno tveganje vsebnosti mikotoksinov je lahko tudi posledica ne dovolj hitrega sušenja zrnja po žetvi, kar predstavlja kritično kontrolno točko zlasti pri koruzi. V preiskovanih vzorcih, ki so bili pozitivni na sledove, prevladujejo sledovi mikotoksinov, med 180 preiskovanimi pesticidi je bilo zaznati le sledove uporabe pirimifos metila in malationa, kar je vsekakor zelo spodbudno, saj vzorci izvirajo iz konvencionalne neekološke pridelave in predelave. Podobno študijo bi bilo zaradi ugotavljanja sledov pesticidov predvsem pa zaradi mikotoksinov smiselno izvesti tudi na ekološko pridelanih surovinah. Aktualni sledovi onesnaževalcev so specifični za posamezno žito, nad njimi je smiselno in racionalen pogostejši monitoring. Zagotavljanje varnosti izdelkov iz žit temelji na analizi tveganj in načrtu HACCP, pri čemer proizvajalec pripravi oceno tveganj, ki jih prinašajo surovine, tehnološki postopek izdelave in dajanje v promet. Varnost izdelkov iz žit je mogoče zagotoviti le s sistematičnim pristopom. S sistemom je potrebno zagotoviti ustrezno kmetijsko prakso, sledljivost izdelka in prepoznavanje njegovega izvora. Nekateri »novoodkriti« mikotoksini še nimajo določene zgornje, še

sprejemljive meje sledov (glej preglednice), študije se izvajajo na nivoju EU. Pravilno določene meje in delovanje sistema nam daje jamstvo, da so tveganja obvladana in izdelki, ki prihajajo na trg varni.

Večino kemijskih tveganj je mogoče obvladati izključno na nivoju pridelave, mlevski industriji preostane le finančno zahtevno odkrivanje morebitnih presežkov sledov. Najpomembnejša dejavnika varnosti žit za predelovalce, predstavljata nabava žit pri preverjenih dobaviteljih ter izvajanje ustreznega monitoringa pred pričetkom uporabe surovin.

5 LITERATURA

DJ Sanco. 2008. EU pesticides database.

http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm?event=commodity.resultat
(30. 3. 2009).

European commission. 1999. Opinion on *Fusarium* toxins.

http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out44_en.pdf (30. 3. 2009)

FAO. 2002. Twenty Second FAO Regional Conference for Europe. .

<http://www.fao.org/docrep/meeting/x4983e.html> (29. 01. 2004).

Pravilnik o onesnaževalcih v živilih. Uradni list RS, 69-3323/2003.

Uredba Evropskega parlamenta in Sveta (ES) št. 396/2005 o mejnih vrednostih ostankov pesticidov v ali na hrani in krmi rastlinskega in živalskega izvora ter o spremembi Direktive Sveta 91/414/EGS.

Uredba Sveta (ES) št. 1881/2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih in sprememba z Uredbo 1126/2007).

VPLIV RAZLIČNIH TEHNOLOGIJ VARSTVA JABLAN PRED BOLEZNIMI IN ŠKODLJIVCI NA OSTANKE FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV V JABOLKAH

Andrej SIMONČIČ¹, Peter KOZMUS², Vojko ŠKERLAVAJ³, Špela MODIČ⁴, Roman MAVEC⁵, Matej STOPAR⁶, Helena BAŠA ČESNIK⁷, Špela VELIKONJA BOLTA⁸, Ana GREGORČIČ⁹

Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

IZVLEČEK

V prispevku je obravnavana problematika ostankov fitofarmaceutskih sredstev (FFS) v jabolkih, ki so glede na domače kot tudi tuje rezultate spremljanja ostankov FFS v kmetijskih pridelkih še vedno med najbolj obremenjenimi. Prikazani so rezultati raziskave spremljanja vsebnosti ostankov FFS ter težkih kovin v jabolkih v poskusnem sadovnjaku Brdo pri Lukovici v letu 2008. V raziskavo je bilo vključenih več različnih tehnologij varstva pred boleznimi in škodljivci glede na uporabljene FFS. Uporabljeni škropilni programi so bili pripravljene na podlagi priporočil integriranega ter ekološkega varstva jablan. Spremljali smo zdravstveno stanje jablan ter ostanke FFS ter težkih kovin. Ker med različnimi postopki varstva ni bilo razlik glede zdravstvenega stanja oziroma zastopanosti škodljivih organizmov ter povzročiteljev bolezni, smo v rezultatih predstavili le vpliv različnih tehnologij varstva na ostanke FFS ter težkih kovin. Iz rezultatov lahko ugotovimo, da med posameznimi škropilnimi programi obstajajo minimalne razlike glede na število ter vsebnost analiziranih aktivnih snovi, vendar nobeden izmed analiziranih vzorcev jablan ne glede na škropilni program ni vseboval ostankov FFS, ki bi presegali najvišje dovoljene količine (MRL).

Ključne besede: sadovnjaki, jablane, fitofarmaceutska sredstva, ostanke fitofarmaceutskih sredstev

ABSTRACT

THE INFLUENCE OF DIFFERENT PLANT PROTECTION TECHNOLOGIES ON PESTS AND DISEASES IN ORCHARDS AND THEIR RESIDUES IN FRUITS

The current paper discusses the problematic nature of the residues of plant protection products (PPP) in apples which, due to Slovene National Monitoring Programme as well as other official monitoring results performed in other countries, still represent the agricultural product containing the greatest number of PPP residues. The results of the investigation on the presence of PPP residues and heavy metals at the Experimental Station Brdo pri Lukovici in 2008 are presented. Different Integrated and Ecological Plant Protection Programmes were included in the investigation. The presence of pests and diseases as well as the residues of PPP were investigated. Since there were no differences regarding plant

¹ doc. dr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

² dr., univ. dipl. inž. zoot., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ mag. agr. znan., prav tam

⁵ vodja poskusnega sadovnjaka Brdo pri Lukovici

⁶ dr. agr. znan., prav tam

⁷ mag. kem. znan., prav tam

⁸ dr. kem. znan., prav tam

⁹ dr. agr. znan., prav tam

health, only the results on the presence of PPP residues and heavy metals are presented and discussed. From the results of analyses it could be seen that there were only minor insignificant differences between different spraying programmes on the number and the quantity of PPP residues in apple samples. Regardless of the spraying programme there were no samples with PPP residues exceeding the maximum residue level (MRL).

Keywords: fruit, apples, plant protection products, residues

1 UVOD

V osemdesetih letih prejšnjega stoletja smo bili priča prvih pomislekov glede neželenih ostankov fitofarmaceutskih sredstev (FFS) v kmetijskih proizvodih in živilih. Od tistega časa dalje so bila FFS deležna čedalje večje pozornosti tako strokovne kot tudi širše javnosti. Vse naprednejše države so pričele uvajati ostrejšše nadzore uporabe FFS ter spremljanja njihovih ostankov v kmetijskih proizvodih in živilih. Tako tudi v Sloveniji že več kot 35 let spremljamo kontaminacijo kmetijskih proizvodov z ostanki najpogosteje uporabljenih insekticidov, fungicidov in herbicidov. To spremljanje je bilo sicer v prvih letih vezano na razvojno raziskovalne naloge, medtem ko sega redno in sistematično spremljanje v nekoliko bolj bližnjo preteklost. Za spremljanje ostankov v kmetijskih proizvodih je pri nas ves čas odgovorno Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS, ki izvaja v zadnjih letih to dejavnost oziroma monitoring na podlagi Zakona o FFS (U. l. RS 98/04) ter Uredbe o monitoringu pesticidov v živilih in kmetijskih proizvodih (U. l. RS 84/04). Na izvedbenem nivoju je v to nalogo od leta 1987 vključen tudi Kmetijski inštitut Slovenije (KIS), kjer to nalogo opravljamo v okviru strokovnih nalog, od leta 1999 pa v okviru Programa za nacionalni monitoring (Baša Česnik in sod., 2003). Med kmetijskimi proizvodi ter živilih, ki se preverjajo v okviru monitoringa ostankov FFS, so tako pri nas kot tudi v tujini jabolka med tistimi, kjer najpogosteje ugotavljamo ostanke FFS. Zato ni presenetljivo, da so prav jabolka tista, ki jih v okviru tovrstnih monitoringov večina držav tudi stalno nadzira.

V preteklosti so bile opravljene številne raziskave, ki so obravnavale ostanke FFS v tleh sadovnjakov ter jabolkah (v začetku predvsem Maček in sod. 1976, 1986, 1992, pozneje po letu 1987 pa v okviru strokovne naloge na Kmetijskem inštitutu Slovenije, Gartner in Urek, 1991, Urek in Gregorčič, 2000, Baša-Česnik in sod., 2006). Kljub intenzivni rabi FFS v sadovnjakih, rezultati v zadnjih letih kažejo, da so ostanki FFS v okviru dovoljenih predpisov ter povsem primerljivi rezultatom iz tujine (Australian Government, Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, 2007, European Community, 2007, Pesticide Residues Committee, 2006, Simončič, 2007, Simončič in sod., 2008). Skrb javnosti pa je kljub temu čedalje večja tudi zaradi dejstva, da pri ugotavljanju ostankov FFS v jabolkih pogosto naletimo na vzorce z ostanki večjega števila aktivnih snovi. Na osnovi rezultatov EU monitoringa, porast števila vzorcev z več najdenimi aktivnimi snovmi v enem vzorcu razlagajo delno z boljšimi analitskimi zmogljivostmi laboratorijev in vedno večjim številom analiziranih aktivnih snovi (Monitoring of pesticide residues in products of plant origin in the European union, Norway, Iceland and Liechtenstein, 2007).

Namen naše raziskave je bil ugotoviti, katera FFS se zaradi obstojnosti pojavljajo v jabolkih kot tudi ugotoviti vpliv različnih postopkov varstva jablan na kakovost pridelka in ostanke FFS v jabolkih. Ker predstavlja sadjarstvo eno najintenzivnejših kmetijskih panog glede varstva pred boleznimi, škodljivci in pleveli tako v Sloveniji kot tudi v tujini, smo želeli ugotoviti ali je mogoče kljub številnim škropljenjem v času sezone pridelati jabolka brez ostankov FFS oziroma s čim manj ostanki ter čim manjšim številom ostankov FFS in ali je mogoče s spremembo škroplilnega programa ob enako kakovostnem pridelku še dodatno zmanjšati število in količino ostankov FFS v jabolkih.

2 MATERIALI IN METODE

Raziskavo smo opravili v sadovnjaku Brdo pri Lukovici na sortah topaz, jonagold, gala in idared. V raziskavo smo vključili 3 različne postopke varstva jablan pred boleznimi in škodljivci (ekološka pridelava – EKO, integrirana pridelava 1 – IP1, integrirana pridelava 2 – IP2. EKO postopek varstva je bil opravljen v skladu z usmeritvami eko pridelave za leto 2008 (preglednica 1). IP1 postopek varstva je bil izveden v skladu z usmeritvami integrirane pridelave sadja za leto 2008 (preglednica 2). IP2 postopek varstva je bil ravno tako v skladu z usmeritvami integrirane pridelave sadja za leto 2008, pri čemer smo do 10. julija škropili po programu IP1, zadnji 2 škropljenji pa smo sprememnilo tako, da smo pripravka Pirimor 50 WG (pirimikarb) ter Pynrex 25 SC (klorpirifos) nadomestili s pripravkom Steward (indoksakarb) (preglednica 3).

Za vsak postopek smo uporabili tri vrste v dolžini 180 m ter dodatno še eno vrsto levo in desno od preučevanih parcel, ki sta predstavljali varovalni pas zaradi preprečevanja vpliva zanašanja škropiva. Razdalja med vrstami je bila 3,5 m. V vsakem postopku smo v ocenjevanje vključili le sredinsko vrsto.

Preglednica 1. Program škropljenja za ekološko pridelavo jabolk (EKO) v sadovnjaku Brdo pri Lukovici v letu 2008

Datum škroplj.	Škodljiv organizem	Pripravek	Aktivna snov	Odmerek a. s./ha	Odm. priprav./ha
14. april	škrlup, bakterioze, hrušev ožig	Cuprablau-z	Cu-hidroksid	175 g Cu, 10 g Zn	0,5 kg
		Kumulus	žveplo	1,6 kg	2 kg
28. april	škrlup, bakterioze, hrušev ožig jablanova pepelovka	Cuprablau-z	Cu-hidroksid	350 g Cu, 20 g Zn	1 kg
		Pepelin	žveplo	2,4 kg	3 kg
14. maj	škrlup, bakterioze, hrušev ožig jablanova pepelovka mokasta uš	Cuprablau-z	Cu-hidroksid	350 g Cu, 20 g Zn	1 kg
		Pepelin	žveplo	3 kg	3 kg
		Neemazal	azadirahatin A	15 g	1,5 l
22. maj	jajčeca rdeče sadne pršice, listnih uši, jablanov cvetožer mokasta uš jablanova pepelovka	Žvepleno apnena brozga	kalcijev polisulfid	8 l	40 l
		Neemazal	azadirahatin A	20 g	2 l
		Pepelin	žveplo	2,4 kg	3 kg
20. junij	Jajčeca rdeče sadne pršice, listnih uši, jablanov cvetožer jabolčni zavijač	Žvepleno apnena brozga	kalcijev polisulfid	10 l	50 l
		Madex	virusni pripravek	100 ml	100 ml
11. julij	Jajčeca rdeče sadne pršice, listnih uši, jablanov cvetožer jabolčni zavijač	Žvepleno apnena brozga	kalcijev polisulfid	8 l	40 l
		Madex	virusni pripravek	100 ml	100 ml
30. julij	Jajčeca rdeče sadne pršice, listnih uši, jablanov cvetožer jabolčni zavijač	Žvepleno apnena brozga	kalcijev polisulfid	8 l	40 l
		Madex	virusni pripravek	100 ml	100 ml
8. avgust	Jajčeca rdeče sadne pršice, listnih uši, jablanov cvetožer jabolčni zavijač	Žvepleno apnena brozga	kalcijev polisulfid	6 l	30 l
		Madex	virusni pripravek	100 ml	100 ml
28. avgust	jablanova pepelovka jabolčni zavijač	Pepelin	žveplo	2,4 kg	3 kg
		Madex	virusni pripravek	100 ml	100 ml
		Biofa cocana	kisle glin	10 l	10 l

Aplikacijo smo opravili s pršilnikom Holder NI 1000 ob hitrosti 4,7 km/h ter uporabi 12 šob Albuz ATR 80 pri tlaku 10 barov ter porabi vode 800 L/ha. Veter med škropljenjem nikoli ni presegal hitrosti 2 m/s. Vsa škropljenja smo opravili ponoči ali v zgodnjem jutranjem času v

skladu z dobro prakso varstva rastlin predvsem zaradi preprečitve morebitnega tveganja za zastrupitev čebel. Škropilne načrte za vse tri postopke smo pripravili v skladu z večletno prakso in so razvidni iz preglednic 1, 2 in 3.

Preglednica 2: Škropilni načrt za integrirano pridelavo jabolk (IP1) v sadovnjaku Brdo pri Lukovici v letu 2008

Datum škroplj.	Škodljiv organizem	Pripravek	Aktivna snov	Odm. akt. snovi/ha	Odm. priprav./ha
14. mar.	zimsko jajčeca	Žvepl. apnena brozga	kalcijev polis.	40 l	200 l
20. mar.	škrlup, hrušev ožig	Cuprablau-z	Cu-hidroksid	700 g Cu, 40 g Zn	2 kg
31. mar.	škrlup, bakterioze, hrušev ožig	Cuprablau-z	Cu-hidroksid	700 g Cu, 40 g Zn	2 kg
5. april	škrlup	Dithane M-45	mankozeb	2 kg	2,5 kg
14. april	škrlup	Syllit 400 SC	dodin	0,6 kg	1,5 kg
21. april	škrlup	Chorus 75 WG	ciprodinil	2,25 kg	0,3 kg
		Dithane M-45	mankozeb	2 kg	2,5 kg
26. april	škrlup	Delan 700 WG	ditianon	4,2 kg	0,6 kg
2. maj	škrlup	Score 250 EC	difenkonazol	62,5 g	0,25 kg
		Delan 700 WG	ditianon	3,5 kg	0,5 kg
8. maj	škrlup	Score 250 EC	difenkonazol	62,5 g	0,25 kg
		Delan 700 WG	ditianon	3,5 kg	0,5 kg
15. maj	škrlup,	Zato 50 WG	trifloksistrobin	0,1 kg	0,2 kg
	jablanova plesen,	Delan 700 WG	ditianon	4,2 kg	0,6 kg
	uši,	Pepelin	žveplo	1,6 kg	2 kg
	jabolčna grizlica	Calypso SC 480	tiaklopid	96 ml	0,2 l
22. maj	škrlup,	Score 250 EC	difenkonazol	62,5 g	0,25 l
	jablanova plesen	Merpan 80 WDG	kaptan	1,6 kg	1,8 kg
		Pepelin	žveplo	1,6 kg	2 kg
29. maj	škrlup	Indar 5 EW	fenbukonazol	45 ml	0,9 l
		Dithane M-45	mankozeb	2,4 kg	3 kg
9. junij	škrlup,	Merpan 80 WDG	kaptan	1,6 kg	2kg
	jabolčni zavijač	Diazinon 20	diazinon	0,54 kg	2,7 kg
19. jun.	škrlup	Delan 700 WG	ditianon	0,35 kg	0,5 kg
	grenka pega	CaCl ₂	CaCl ₂ 80%	3,2 kg	4 kg
30. jun.	škrlup	Delan 700 WG	ditianon	3,5 kg	0,5 kg
	grenka pega	CaCl ₂	CaCl ₂ 80%	3,2 kg	4 kg
10. jul.	škrlup	Merpan 80 WDG	kaptan	1,6 kg	2 kg
	jabolčni zavijač	Runner 240 SC	metoksi fenozid	96 ml	0,4 l
	uši	Pirimor 50 WG	pirimikarb	0,3 kg	0,6 kg
29. jul.	škrlup	Merpan 80 WDG	kaptan	1,6 kg	2 kg
	jabolčni zavijač	Pyrinex 25 SC	klorpirifos	0,5 l	2 l
	uši	CaCl ₂	CaCl ₂ 80%	3,2 kg	4 kg
12. sep.	škrlup	Bellis	boskalid in piraklostrobin	0,2 kg + 0,1 kg	0,8 kg

Po preteku karence smo iz vseh treh postopkov odvzeli po 4 vzorce jabolk. Vzorce jabolk smo odvzeli naključno in po vsej površini poskusa. Po odvzemu smo jih takoj prenesli v laboratorij, kjer so jih analizirali na ostanke aktivnih snovi, ki so bile prisotne v sredstvih, ki smo jih uporabili v raziskavi.

Preglednica 3. Del škropilnega načrta za integrirano pridelavo jabolk 2 (IP2) v sadovnjaku Brdo pri Lukovici v letu 2008 za zadnji 2 škropljenji

Datum škroplj.	Škodljiv organizem	Pripravek	Aktivna snov	Odm. akt. snovi/ha	Odmerek priprav./ha
29. julij	jabolčni zavijač	Steward	indoksakarb	75 g	0.25 kg
	jablanova pepelovka	Pepelin	žveplo	3,6 kg	4 kg
	škrlup	Myco-Sin	kisla glina	10 kg	10 kg
28. avgust	jabolčni zavijač	Steward	indoksakarb	75 g	0.25 kg
	jablanova pepelovka	Pepelin	žveplo	3,6 kg	4 kg
	škrlup	Myco-Sin	Kisla glina	10 kg	10 kg

Za laboratorijske analize ostankov FFS v vzorcih smo uporabili tri metode:

- multirezidualna metoda 1 (GC/MS): homogenizirane vzorce smo ekstrahirali z mešanico acetona, petroletra in diklorometana, ekstrakte smo očistili z gelsko permeacijsko kromatografijo in analizirali s plinsko kromatografijo z masno selektivnim detektorjem (Baša-Česnik in sod., 2006),
- multirezidualna metoda 2 (LC/MS/MS): homogenizirane vzorce smo ekstrahirali z mešanico acetona, petroletra in diklorometana, ekstrakte smo očistili z gelsko permeacijsko kromatografijo in analizirali s tekočinsko kromatografijo z masno selektivnim detektorjem,
- metoda za določitev ostankov ditiokarbamatov (GC/MS): vzorce smo segrevali v dvofaznem sistemu izo-oktan/kositrov(II)klorid v razredčeni klorovodikovi kislini, nastali ogljikov disulfid smo raztopili v organski fazi in analizirali s plinsko kromatografijo z masno selektivnim detektorjem (Baša-Česnik in Gregorčič, 2006).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V preglednicah 4 in 5 so prikazani rezultati analiz vzorcev jabolk iz treh postopkov varstva jablan v sadovnjaku Brdo pri Lukovici v letu 2008. V preglednici 4 lahko vidimo, da v nobenem izmed vzorcev v okviru EKO škropilnega programa nismo ugotovili ostankov uporabljenih FFS. Pri IP1 ter IP2 pa so vsi analizirani vzorci vsebovali najmanj eno aktivno snov. Pri nobenem izmed analiziranih vzorcev nismo ugotovili ostankov, ki bi presegali najvišjo dopustno vrednost (MRL). Rezultati so zelo podobni rezultatom nacionalnega monitoringa v letu 2008, kjer so pri 71,1 % vzorcev ugotovili ostanke FFS, vendar pri nobenem le-ti niso presegali najvišje dopustne vrednosti (Gregorčič in sod., 2008). Tovrstni rezultati so hkrati povsem primerljivi z evropskimi in svetovnimi podatki (EU, Monitoring of pesticide residues in products of plant origin in the European union, Norway, Iceland and Liechtenstein, 2007; PSD, UK, Annual Report of the Pesticide residues Committee, 2006; Australian Government, National Residue Survey 2006-2007), oziroma celo boljši, če jih primerjamo zgolj s podatki za leto 2008. Relativno veliko število ter visok odstotek vzorcev jabolk z ostanki FFS v dovoljenih mejah tako v tujini kot tudi pri nas ni presenetljiv, saj tehnika pridelovanja oziroma pridelovalne razmere v večini primerov ne dopuščajo opustitev uporabe FFS v juliju in avgustu, ko je jablane potrebno zavarovati pred škrlupom, jabolčnim zavijačem ter skladišnimi boleznimi.

Iz preglednice 5 je razvidno, da so najpogosteje ugotovljene aktivne snovi prav FFS, ki jih uporabljamo v ta namen (kaptan, ciprodinil in piraklostrobin med fungicidi ter pirimikarb, indoksakarb ter klorpirifos-metil med insekticidi). Pri ugotavljanju števila aktivnih snovi v posameznih vzorcih smo pri IP1 ugotovili 1 vzorec z ostanki 3 aktivnih snovi ter 1 vzorec s 4 aktivnimi snovmi, medtem ko sta pri IP2 2 vzorca vsebovala ostanke 2 aktivnih snovi, 1 vzorec je vseboval 3 ter 1 vzorec 4 aktivne snovi. Tudi ti rezultati so povsem primerljivi oziroma celo boljši v primerjavi z že naštetimi tujimi rezultati kot tudi z nacionalnim monitoringom, kjer smo v letu 2008 pri preverjanju 38 vzorcev ugotovili v 7 vzorcih 1

aktivno snov, v 7 vzorcih 2, v 3 vzorcih 3, v 6 vzorcih 4, v 3 vzorcih 5 in 1 vzorcu 6 aktivnih snovi, medtem ko v 12 vzorcih ni bilo ostankov FFS.

Preglednica 4: Rezultati analiz vzorcev jabolk na ostanke FFS iz treh postopkov varstva jablan v sadovnjaku Brdo pri Lukovici v letu 2008

Vrsta varstva	Skup. št. vzorcev	Št. vzorcev pod LOD		Št. vzorcev pod MRL		Št. vzorcev nad MRL	
		št.	%	št.	%	št.	%
EKO	4	4	100,0	0	0,0	0	0,0
IP1	4	0	0,0	4	100	0	0,0
IP2	4	0	0,0	4	100	0	0,0
Skupaj	12	4	33,3	8	66,7	0	0,0
Nac. mon.*	38	11	28,9	27	71,1	0	0,0

* Rezultati analiz vzorcev jabolk v okviru uradnega monitoringa ostankov FFS v letu 2008

Preglednica 5: Rezultati analiz vzorcev jabolk z ugotovljenimi ostanki FFS iz treh postopkov varstva jablan v sadovnjaku Brdo pri Lukovici v letu 2008

	Multirezidulna metoda 1					Multir. met. 2
	pirimikarb	klorpirifos	ciprodinil	kaptan	indoksakarb	piraklostrobin
MRL (mg/kg)	2	0,5	1	3	0,5	0,3
LOQ (mg/kg)	0,01	0,01	0,01	0,2	0,03	0,01
Vzorec EKO-1	-	-	-	-	-	-
Vzorec EKO-2	-	-	-	-	-	-
Vzorec EKO-3	-	-	-	-	-	-
Vzorec EKO-4	-	-	-	-	-	-
Vzorec IP1-1	0,06	0,03	-	-	-	0,02
Vzorec IP1-2	0,01	-	0,2	-	-	0,01
Vzorec IP1-3	0,07	0,01	0,1	-	-	0,01
Vzorec IP1-4	0,01	0,01	-	-	-	0,03
Vzorec IP2-1	0,06	-	-	0,49	0,04	-
Vzorec IP2-2	0,01	-	0,1	0,72	0,06	-
Vzorec IP2-3	-	-	-	0,34	0,04	-
Vzorec IP2-4	-	-	-	0,39	0,05	-

Ob dobljenih rezultatih lahko ugotovimo, da bi bilo mogoče tako delež vzorcev z dovoljenimi ostanki kot tudi delež vzorcev z manjšim številom ostankov še zmanjšati, kar pa je odvisno tako od pridelovalcev ter njihove tehnike pridelovanja vključno z varstvom jablan kot tudi od številnih drugih dejavnikov, na katere pa proizvajalci sami pogosto nimajo neposrednega vpliva (npr. sortni sestav – bolj odporne sorte jablan, FFS s hitrejšo razgraditvijo in primernejše sadjarske lege).

4 SKLEPI

Z rezultati naše študije smo ugotovili, da smo v okviru EKO pridelovanja uspeli pridelati jabolka brez ugotovljenih ostankov FFS, medtem ko smo v okviru IP1 in IP2 ugotovili ostanke FFS v okviru dovoljenih vrednosti. Ostanki, ki smo jih ugotovili, so v prvi vrsti posledica zadnjih dveh škropljenj proti jablanovemu škrlupu in jabolčnemu zavijaču. Ugotovljene vrednosti so bile precej manjše v primerjavi s tistimi, ki jih dovoljujejo predpisi, saj so predstavljale v povprečju manj kot 20 % s predpisi dovoljenih vrednosti. Ker smo vzorčenje opravili na dan pretoka najdaljše karence pripravka, ki smo ga uporabili pri

zadnjem škropljenju, bi bili rezultati še ugodnejši, če bi vzorčenje opravili pozneje po preteku karence, zato bomo v prihodnje v naše raziskave vključili večje število analiz, ki bodo vključevale tudi natančnejšo oceno razgraditve uporabljenih FFS. Naši rezultati so hkrati primerljivi z rezultati uradnega monitoringa ostankov FFS v kmetijskih pridelkih v Sloveniji v letu 2008, kjer prav tako ni bilo ugotovljenega nobenega primera, kjer bi bile presežene najvišje dopustne vrednosti ostankov FFS. Eden pomembnejših sklepov je prav gotovo tudi jasno sporočilo širši javnosti, da ob upoštevanju zakonodaje ter navodil za uporabo FFS ni bojazni, da bi jabolka vsebovala prekomerne ostanke FFS. Rezultati raziskave dopolnjujejo ter potrjujejo ostale tovrstne raziskave glede varne in kakovostne hrane tako pri nas kot tudi v tujini. Čeprav predstavlja sadjarstvo že vrsto let kmetijsko panogo, ki je s svojim integriranim varstvom lahko vzgled drugim kmetijskim pridelovalcem, pa je prav gotovo mogoče z različnimi tehnološkimi ukrepi to stanje še izboljšati. To pa je odvisno predvsem od dobre usposobljenosti ter znanja sadjarjev ter strokovnih služb za njihovo podporo.

5 LITERATURA

- Australian Government, Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, 2007. National Residue Survey 2006-2007, Summary of results, 4 s.
- Baša Česnik H., Gregorčič A., Kmecl V., 2003. Monitoring ostankov pesticidov v kmetijskih pridelkih v letih 2001 in 2002.- *Journal of Central European Agriculture*, 4: 327-335.
- Baša Česnik H., Gregorčič A., Velikonja Bolta Š., Kmecl V. Monitoring of pesticide residues in apples, lettuce and potato of the Slovene origin, 2001-04, *Food Addit. Contam.* (2006) 23: 164-173.
- Baša Česnik H., Gregorčič A., Validation of the Method for the Determination of Dithiocarbamates and Thiuram Disulphide on Apple, Lettuce, Potato, Strawberry and Tomato Matrix. *Acta Chim. Slov.*, 2006, 53, 100-104.
- European Community, 2007. Monitoring of pesticide residues in products of plant origin in the European union, Norway, Iceland and Liechtenstein, 2007. Pridobljeno 05.11.2007 iz http://ec.europa.eu/food/fvo/specialreports/pesticides_index_en.htm.
- Gartner A. in Urek G. 1991. Ostanki kloriranih ogljikovodikov v tleh z intenzivno obdelanih zemljišč s trajnimi nasadi in vrtninami.- *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani*, 57, 1991, s. 121-125.
- Gregorčič A., Baša Česnik H., Velikonja Bolta Š., Žnidaršič Pongrac V., Kmecl V., Janeš L. 2008. Določanje ostankov fitofarmaceutskih sredstev in ostalih onesnaževal v kmetijskih pridelkih.- (KIS - Poročila o strokovnih nalogah, 114), Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije, 2008, 97 s.
- Maček J., Cencelj J., Dorer M. 1976. Kontaminacija zemlje iz sadovnjakov in plodov jablan ter hrušk z rezidui karbarila in endrina v Sloveniji.- *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani*, 25, 1976, s. 225-234.
- Maček J., Repe J. 1986. Kontaminacija zemlje iz sadovnjakov z ostanki kloriranih ogljikovodikov in jabolok z ostanki karbarila, ditiokarbamatov in kloriranih ogljikovodikov v Sloveniji.- *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze Edvarda Kardelja v Ljubljani*, 47, 1986, s. 181-187.
- Maček J. 1992. Kontaminacija tal in rastlinskih pridelkov z ostanki fitofarmaceutskih sredstev v Sloveniji v obdobju 1973-1991. *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani*, 1992, 59, s. 229-240.
- Pesticide Residues Committee, UK, 2006. Annual Report of the Pesticide Residues Committee 2006, 35 s. Pridobljeno iz <http://www.pesticides.gov.uk/prc.asp?id=1937>
- Simončič A., 2007. Raba fitofarmaceutskih sredstev v kmetijstvu.- *Kmečki glas, Strokovna priloga Sodobno kmetijstvo – Onesnaževanje v kmetijstvu*, 40, št. 4, s. 8-11.
- Simončič A., Baša Česnik H., Vrščaj B., Zdravec P., 2008. Raba fitofarmaceutskih sredstev v sadjarstvu in problematika njihovih ostankov v sadju in okolju.- *Zbornik referatov 2. Slovenskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško*, 31 jan.-2. Feb. 2008, Ljubljana, 2008 (ur. Metka Hudina), s. 59-71.
- Urek G., Gregorčič A. 2000. Contamination of agricultural products with pesticide residues in the period 1996-1998 - comparison with the period 1987-1995 = Onesnaženost kmetijskih pridelkov z ostanki fitofarmaceutskih sredstev v obdobju 1996-1998 - primerjava z obdobjem 1987-1995.- *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani*, 2000, 75-2, s. 193-201.

CHLORANTRANILIPROLE (DPX-E2Y45, RYNAXYPYR[®], CORAGEN[®]), A NEW DIAMIDE INSECTICIDE FOR CONTROL OF CODLING MOTH (*Cydia pomonella*), COLORADO POTATO BEETLE (*Leptinotarsa decemlineata*) AND EUROPEAN GRAPEVINE MOTH (*Lobesia botrana*)

Andrea BASSI¹, J. L. RISON², J. A. WILES³

¹DuPont Italy Srl

²Du Pont de Nemours (France) SAS

³Du Pont (UK) Limited

ABSTRACT

Chlorantraniliprole (DPX-E2Y45, Rynaxypyr[®], Coragen[®]) is a new compound by DuPont belonging to a new class of selective insecticides (anthranilic diamides) featuring a novel mode of action (group 28 in the IRAC classification). By activating the insect ryanodine receptors (RyRs) it stimulates the release and depletion of intracellular calcium stores from the sarcoplasmic reticulum of muscle cells, causing impaired muscle regulation, paralysis and ultimately death of sensitive species (Cordova *et al.* 2006). Extensively tested in the field since 2002, it is registered or next to market introduction in the majority of agricultural countries worldwide. Development in Slovenia is currently focused in foliar applications in apples, potatoes and grapes. In the EU trials, rates of 10-60 g a.s./ha were highly effective on important pests such as: *Cydia pomonella*, *Cydia molesta*, *Lobesia botrana*, *Eupoecilia ambiguella*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Ostrinia nubilalis* and *Helicoverpa armigera*. The product general features have been presented in previous, referenced papers. It has very low toxicity for mammals (both acute and chronic), high intrinsic activity on target pests, strong ovicidal and larvicidal properties, long lasting crop protection and no cross-resistance to any existing insecticide. Coragen[®] demonstrated excellent performance on codling moth and other chewing pests, stability of performance across the different conditions and minimal impact on pollinators, beneficial insects and predatory mites. Whereas the new mode of action makes chlorantraniliprole a valuable option for IRM (Insecticide Resistance Management) strategies, safety to key beneficial arthropods and honeybees confer a strong fit within IPM (Integrated Production Management) programs. The remarkably favourable toxicity profile of chlorantraniliprole, combined with the low use rates, provides large margins of safety for consumers and agricultural workers. After reviewing the product profile, results from laboratory, field and semi-field tests are provided.

Key words: insecticide, Chlorantraniliprole, Coragen[®], ryanodine receptors, Rynaxypyr[®]

1 INTRODUCTION

Chlorantraniliprole is being developed worldwide by DuPont in a broad range of crops to control a range of pests belonging to the Order Lepidoptera and some Coleoptera, Diptera and Isoptera species. In the EU the product is under registration at rates between 10-60 g a.i./ha. It possesses a new mode of action (group 28 in the IRAC MoA scheme), high biological activity, very low mammalian toxicity and selectivity to non-target arthropods. This paper

¹ Via Piero Gobetti 2/C, 20063 Cernusco sul Naviglio (MI) Italy

² ERDC, 24, Rue du Moulin, Nambenheim, F-68740

³ Wegwood Way, Stevenage, Hertfordshire, SG1 4QN, UK

summarizes the main product features and provides a selection of the results obtained in the experimental work carried out in the EU on codling moth, Colorado potato beetle and the European grapevine moth since 2002. The experimental results obtained in Slovenia in 2008 were consistent with those from the rest of Europe.

Product Features

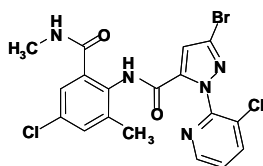
Upon exposure, the sensitive insect species rapidly stops feeding, becomes paralyzed, and ultimately die. Chlorantraniliprole is primarily active on chewing pests by ingestion and by contact, showing good ovi-larvicidal and larvicidal activity. In Colorado potato beetle, good efficacy on adults is also observed. Inhibition of insect feeding occurs rapidly (minutes to a few hours after ingestion) and death normally occurs within 24-72 hours. Consistency of performance and long lasting crop protection are key product features. Differential selectivity towards insect ryanodine receptors (RyRs) explains the product's outstanding profile of mammalian toxicity. The remarkably low toxicity combined with low use rates provides large margins of safety for consumers and agricultural workers (Bassi *et al.*, 2007).

Common name:	Chlorantraniliprole
Chemical class:	Anthranilic diamide
Code number:	DPX-E2Y45
Molecular formula:	C ₁₈ H ₁₄ BrCl ₂ N ₅ O ₂

DuPont Reg. trademark (active) Rynaxypyr®

DuPont Reg. trademark (20 SC formulation) Coragen®

Structural formula:



Formulations - For use on codling moth, Colorado beetle and the European grapevine moth, Chlorantraniliprole is primarily formulated as a 20% w/v (200 g /l) suspension concentrate (Coragen®) showing good tank-stability and compatibility with conventional crop protection products. Unless otherwise specified, the results reported in this paper refer to the Coragen formulation.

Beneficial organisms - Chlorantraniliprole has an excellent profile of safety to beneficial arthropods (Dinter *et al.* 2008), pollinators and non-target organisms such as earthworms and soil microorganisms. The product effects on honeybees have been studied extensively, demonstrating low intrinsic toxicity of chlorantraniliprole and Coragen®. No negative effects were observed under worst-case semi-field conditions on foraging honey bees in numerous tunnel tests (Dinter *et al.* 2009, *in press*). This is an important differentiating feature of Coragen® compared to most synthetic pyrethroid, organo-phosphate and neonicotinoid insecticides that are currently used.

Earthworm acute LC ₅₀ :	>1000 mg a.i./kg
Earthworm reproduction NOEC:	1000 mg a.i./kg
Honeybee acute (48-h) LD ₅₀ (oral) :	>114 µg a.i./bee
Honeybee acute (48-h) LD ₅₀ (contact)	>100 µg a.i./bee
Wasp parasitoid (<i>A. rhopalosiphi</i>) LR ₅₀ and ER ₅₀ :	>750 g a.i./ha
Predatory mite (<i>T. pyri</i>) LR ₅₀ and ER ₅₀ :	>750 g a.i./ha

Anti-resistance strategy - Chlorantraniliprole features a new mode of action (group 28 in the IRAC MoA scheme). Although it has no cross-resistance with other insecticidal modes of action, the risk of resistance development has been considered from the beginning. Pro-active, anti-resistance management is an essential part of the marketing strategy of Chlorantraniliprole. The product will be recommended for use with a restricted number of applications per season, within spray programmes that include other effective insecticides with different modes of action.

2 MATERIALS AND METHODS

The European field experiments were conducted following EPPO (European & Mediterranean Plant Protection Organization) or local guidelines, in accordance with GEP (Good Experimental Practice). Treatment effects are reported as % reduction (of damage or larvae) over the untreated control using Henderson-Tilton's, Schneider-Orelli or the Abbott's formula. The results presented here can be split according to three different datasets:

- 1) performance of Coragen on codling moth and European grapevine moth as a mean of all the assessments carried out season-long in all the significant European trials (2003-06)
- 2) control of Colorado beetle from 19 highly significant trials from Eastern European countries carried out in collaboration with local Potato Institutes (2004-07).
- 3) performance of Coragen from the trials carried out in Slovenia in 2008 on codling moth, pear leaf blister and Colorado beetle.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Pome fruits – Codling moth

Coragen has demonstrated outstanding codling moth control. Results from sequential applications at 14-day intervals, at 3.5-4 g a.i./hl indicate better performance than the best OP or IGR (MAC⁴) reference products. The best comparative results are normally observed when a reduced number of sprays is applied.

Table 1, Efficacy on codling moth (Europe, 2003-2006).

Treatment	Dose rate g a.i./hl	All fruit	% Damage Reduction		
			immature fruits	mature fruits	fallen fruits
Coragen	3.5	90	89	93	89
Coragen	4	93	92	93	92
Reference OP	Label Rate	85	87	80	87
Reference MAC	Label Rate	75	75	75	74

Best results were obtained when Coragen[®] was applied before egg-hatch, during the embryonic stage of *C. pomonella*. The ovicidal timing (egg-laying to “black-head” stage) provides the best overall performance against codling moth. This is explained by the long lasting biological availability of the molecule, the partial ovicidal effects, the potent ovi-larvicidal effects and the strong larvicidal activity on codling moth neonates, either by contact or ingestion.

Coragen performance was validated in a field trial carried out in Slovenia in 2008 with six applications covering the 1st and 2nd codling moth generations. The infestation was more significant end of 2nd generation, with 6,6 fruits infested on untreated. Coragen either alone or in an alternation program with Steward[®] (Indoxacarb) provided a high control level (>90%) in the same range or higher than the standard reference programs.

⁴ Moulting Accelerating Compound

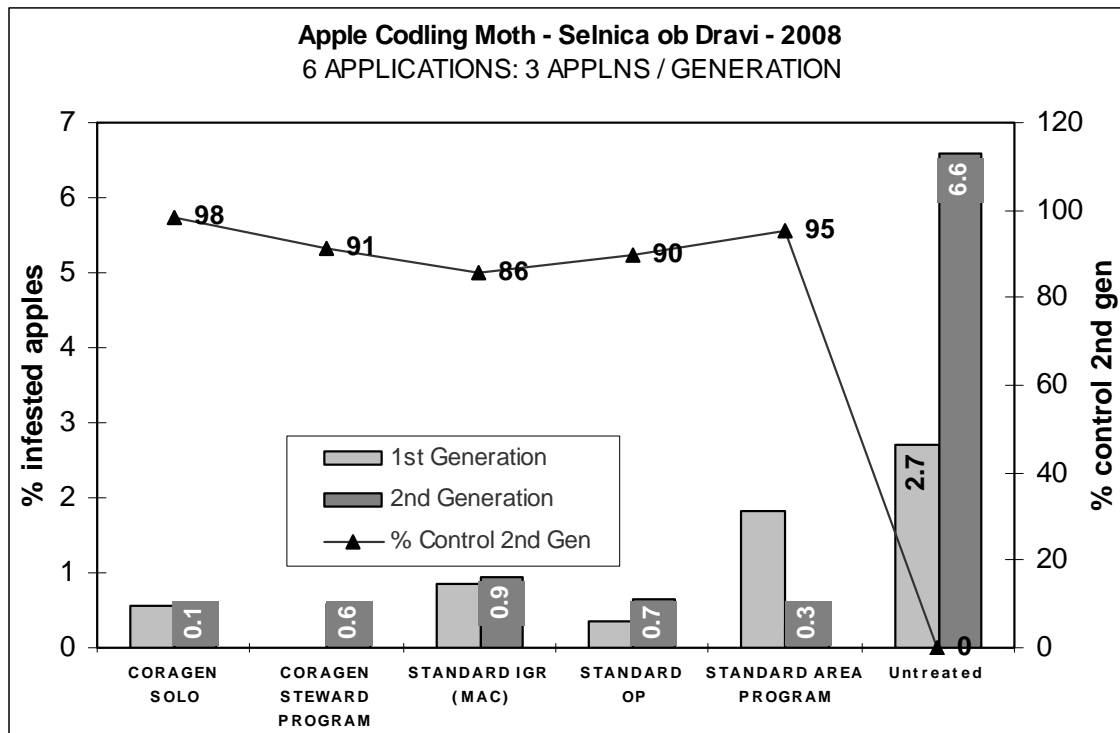


Fig. 1: Results of apple codling moth trial, Selnica ob Dravi, 2008 (Courtesy of the Agricultural and Forestry Chamber of Slovenia).

3.2. Pome fruits - Leafminers

In the European trials Coragen has demonstrated strong activity on the different leafminer species affecting the pome fruits when applied during the egg-laying, before the mines are visible on leaves. In a trial carried out in Slovenia in 2008 on the pear leaf blister moth (*Leucoptera scitella*), with two applications targeting the 1st leafminer generation, Coragen[®] provided the same efficacy level as the neonicotinoid standards.

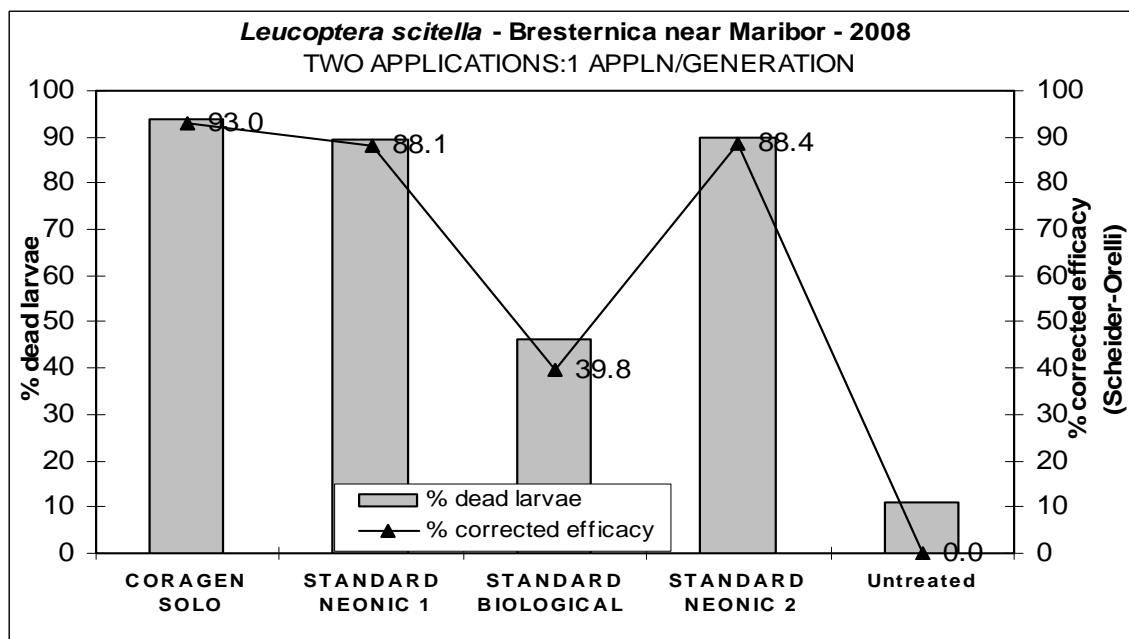


Fig. 2: Results of pear blister moth trial, Bresternica near Maribor, 2008 (Courtesy of the Agricultural and Forestry Chamber of Slovenia).

3.3 Potato – Colorado potato beetle

The results from 32 European trials show that low rates of Rynaxypyr[®] provided excellent control of *L. decemlineata* for up to 22 days after a foliar application. 10 g a.i./ha (Coragen at 50 ml/ha) gave better control than pyrethroid insecticides and the same control as the neonicotinoid standards. Table 2 reports the mean performance from all the assessments carried out 1 to 22 days after single applications.

Table 2: Efficacy on *L. decemlineata* 1-22 days after 1 application (Europe 2003-2006).

Treatment	Dose rate, g a.i./ha	% Reduction foliar damage	% Reduction larvae
Coragen	10	89	92
Coragen	12.5	91	97
Reference S. Pyrethroid	Label Rate	75	84
Reference Neonicotinoid	Label Rate	89	93

Seemingly, the results from a set of 19 trials carried out in the Eastern Europe in collaboration with the local Potato Institutes, confirmed excellent performance in the rate range 10-12.5 g a.i./ha. In some trials Coragen demonstrated longer lasting beetle control vis-à-vis the local neonicotinoid standard, as reflected in the assessments carried out 21 days after application (Bassi *et al.*, 2008).

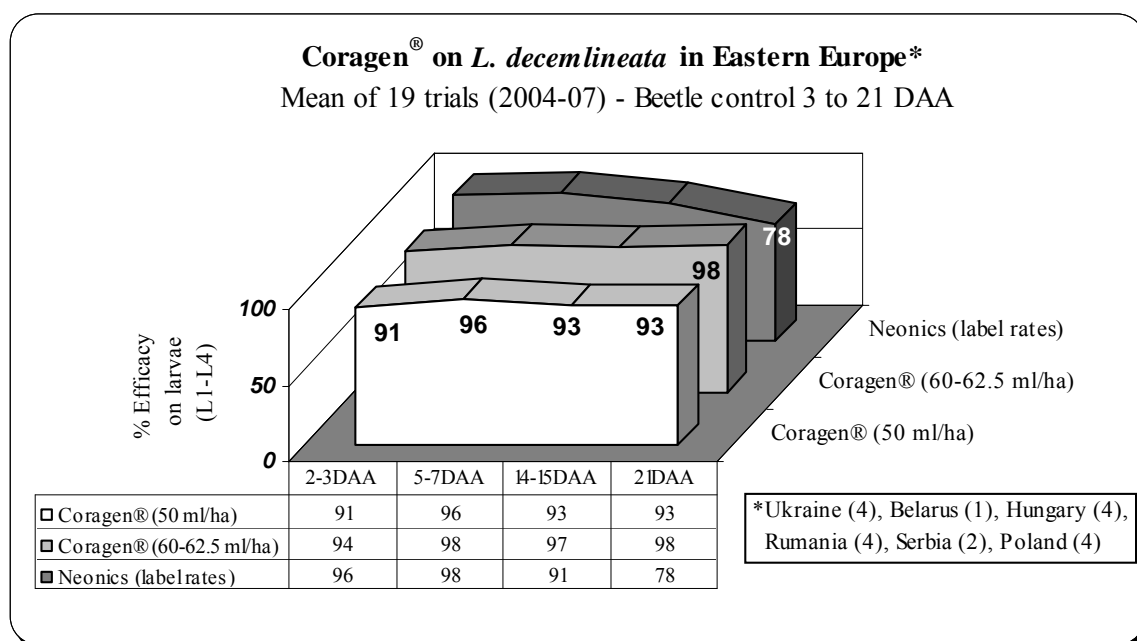


Fig. 3: Mean results of 19 Colorado potato beetle trials carried out in Eastern European countries (2004-2007) in collaboration with the local Potato Institutes.

Longer lasting crop protection was also observed in a validity field trial carried out in Slovenia in 2008, with one application at first larvae appearance. Coragen at both tested rates provided a high control level 20 DDA, significantly higher than the reference neonicotinoid products.

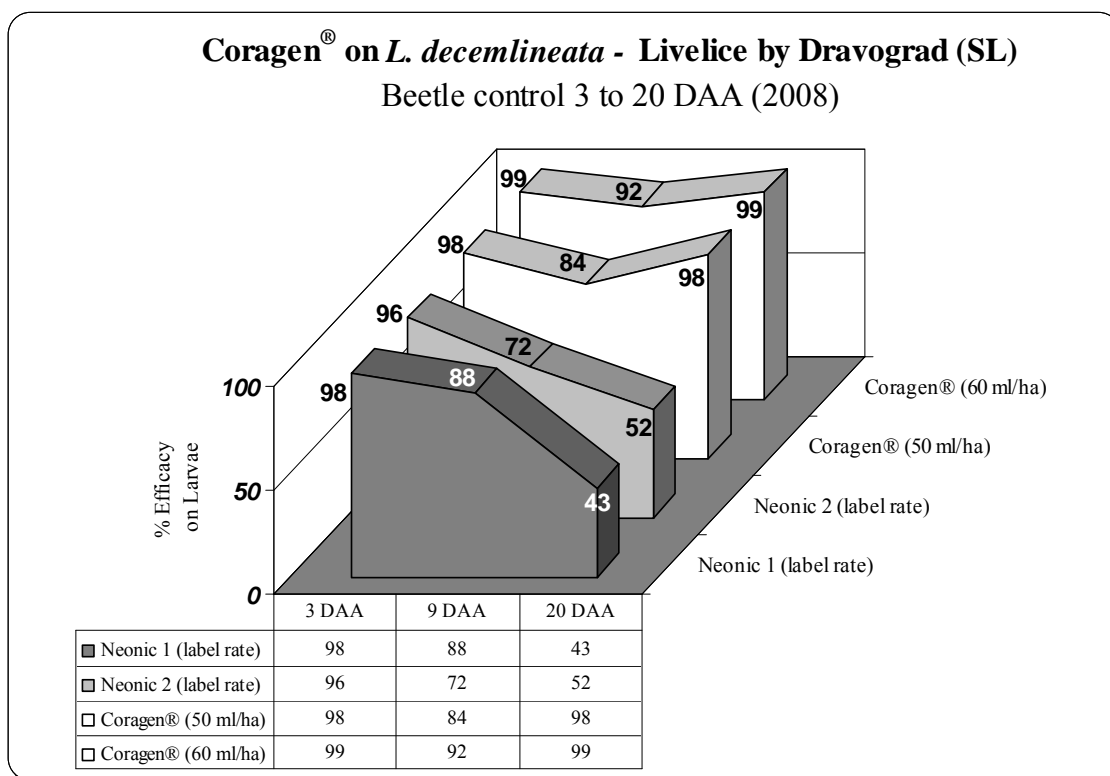


Fig. 4: Results of Colorado potato beetle trial, Libelice by Dravograd, 2008. Courtesy of the Slovenian Institute for Hop Research and the Brewing.

3.4 Grapes – European grapevine moth

Coragen® was broadly tested on wine and table grapes in Southern and Central Europe for control of the grape berry moths. On *Lobesia botrana*, 3-3,5 g a.i./hl provided a comparable or higher reduction of fruit damage and larval presence over commercial standards. For best results, Coragen should be applied early, before egg-hatch (egg-laying to “black-head” stage). Similar results were obtained for control of *Eupoecilia ambiguella*.

Table 3: Efficacy on 2nd generation *Lobesia botrana* (Europe 2003-2006).

Treatment	g a.i./hl	damaged bunches	% Reduction damaged berries	larvae
Coragen	2.5	73	86	87
Coragen	3	78	90	92
Coragen	3.5	80	89	96
Reference MAC	Label Rate	61	85	91

4 CONCLUSIONS

The results from the extensive field testing of Coragen® in Europe (2002-2008) demonstrated high biological activity and long lasting crop protection as regards the apple codling moth (*Cydia pomonella*), Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) and the European grapevine moth (*Lobesia botrana*). Such results were confirmed in the field trials carried out in 2008 in Slovenia, in cooperation with the Pinus company, the Agricultural and Forestry Chamber of Slovenia and the Slovenian Institute for Hop Research and the Brewing. Coragen is already registered in several countries worldwide and next to registration in all the main agricultural countries in Europe. Due to the exceptional toxicological profile of Rynaxypyr®, the European MRL's (maximum residue limits) have already been issued and entered into force on Sep. 1, 2008. As

Rynaxypyr[®] has proven to be safe to numerous beneficial arthropods and pollinators, i.e. honeybees and bumblebees, Coragen will be an excellent tool in integrated pest management (IPM) programs.

5 REFERENCES

- Bassi A., Molnar I., Zielinski D., Savulescu I., Shulgan V., Denic I., Allin J. & Rison J.L. Chlorantraniliprole (Rynaxypyr[®], Coragen[®]): a novel anthranilic diamide insecticide with outstanding control of Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). *Proceedings of the 17th Triennial Conference of the EAPR – International Potato Conference*, 475-478
- Bassi A., Alber R., Wiles J.A., Rison J.L., Frost N.M., Marmor F.W., Marcon P.C., 2007. Chlorantraniliprole: a novel anthranilic diamide insecticide. *Proceedings of XVI International Plant Protection Congress 2007*, Vol. 1:52-59.
- Cordova D., Benner E.A., Sacher M.D., Rauh J.J., Sopa J.S., Lahm G.P., Selby TP; Stevenson T.M., Flexner L., Gutteridge S., Rhoades D.F., Wu L., Smith R.M., Tao Y., 2006. Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 84, 196-214A.
- Dinter A., Brugger K., Bassi A., Frost N.M. & Woodward M.D. (2008). Chlorantraniliprole (DPX-E2Y45, Rynaxypyr[®]) (Coragen[®] 20SC and Altacor[®] 35WG) – a novel DuPont anthranilic diamide insecticide – demonstrating low toxicity and low risk for beneficial insects and predatory mites. *IOBC WPRS Bulletin*, 35: 128-135

PERSPEKTIVE UPORABE FUNGICIDOV NA PODLAGI BAKRA

Mario LEŠNIK¹, Vesna GABERŠEK², Vili KURNIK³

¹Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Maribor

^{2,3}Cinkarna metalurško kemična industrija Celje d.d.

IZVLEČEK

V prispevku so analizirani aktualni trendi glede zmanjševanja porabe fungicidov na podlagi bakra za zatiranje rastlinskih bolezni v Evropi. Predstavljene so nekatere nove formulacije bakrovih pripravkov, ki so učinkovite in ekološko sprejemljivejše od obstoječih klasičnih, s katerimi bi lahko zmanjšali bodoči vnos bakra v okolje in podaljšali njegovo uporabo v varstvu rastlin. Podajamo pregled stanja ponudbe alternativnih pripravkov in njihove možnosti za potencialno zamenjavo bakrovih pripravkov pri najpomembnejših posevkih in nasadih (jablana, vinska trta, krompir, ...). Predstavljena so tudi nekatera prizadevanja slovenske kemične industrije za izdelavo novih formulacij bakrovih pripravkov.

Ključne besede: bakrove spojine, formulacije pripravkov, zatiranje bolezni, okolje

ABSTRACT

THE USE OF COPPER-BASED FUNGICIDES AND THEIR PROSPECTS FOR THE FUTURE

We examined present trends for the reduction of use of copper-based fungicides for the control of plant diseases in Europe. Some new formulations of copper-based fungicides are presented, which are effective and environmentally more acceptable than the existing classical formulations. By switching to these new formulations, we could reduce the future input of copper compounds into agricultural environment and prolong the use of copper fungicides for plant protection purposes. New alternative plant protection products are discussed in respect with their usefulness and potential for replacing of copper compounds in the control of diseases of most important agricultural crops (apple, grapevine, potato, ...). Efforts of domestic Slovenian chemical industry to develop new formulations of copper fungicides are also presented.

Key words: copper fungicides, fungicide formulations, diseases control, environment

1 UVOD

Pripravke na podlagi bakrovih spojin uporabljamo že stoletje dolgo za zatiranje desetih glivičnih in bakterijskih bolezni gojenih rastlin. Pri zatiranju glivičnih bolezni v sistemih integrirane pridelave so bakrovi pripravki dodatno pomembni za upočasnjevanje procesov razvoja odpornosti na klasične organske fungicide, pri ekološkem pridelovanju pa je baker temeljno sredstvo za kemično zatiranje mnogih bolezni. V vseh sistemih pridelovanja je baker predvsem nepogrešljivo sredstvo za zatiranje bakterijskih bolezni.

Baker je v majhnih količinah potreben večini organizmov (Anonimno, 1988). Poraba za rast in razvoj organizmov je tako majhna, da ne more vplivati na stanje zalog bakra v tleh, ki

¹ izr. prof., dr. agr. znan., Pivola 10, SI-2311 Hoče

² univ. dipl. inž. agr., Kidričeva 26, SI-3001 Celje

³ univ. dipl. inž. kem. znan., prav tam

nastanejo zaradi dolgotrajne uporabe bakrovih pripravkov (Borkow in Gabbay, 2007). Ker je kroženje v biotičnih sistemih prepočasno pride do kopičenja in pojavov tako velikih koncentracij, ki so merljivo škodljive, tako za makro in mikro favno, kot floro kmetijskih in robnih habitatov (Georgopoulos *et al.*, 2001; Van Zwieten, *et al.*, 2004b).

Osnovne poti ublažitve negativnih ekoloških posledic dolgotrajne uporabe bakrovih pripravkov so: zmanjšanje števila letnih uporab in odmerkov klasičnih bakrovih pripravkov, kombiniranje zmanjšane uporabe klasičnih pripravkov s povečano uporabo biotičnih pripravkov (ločene ali združene aplikacije), uvajanje novih formulacij bakrovih pripravkov z bistveno povečano učinkovitostjo pri bistveno manjših hektarskih odmerkih in popolna opustitev uporabe bakrovih pripravkov ter nadomestitev z drugimi (Golba, 2001; Goebel *et al.*, 2004; Van Zwieten *et al.*, 2004; Anonimno, 2007a, 2007c).

Osnovni vprašanja pri reševanju neugodnih ekoloških učinkov sta; ali imamo dovolj alternativnih pripravkov, da se popolnoma odpovemo nadaljnji rabi bakrovih pripravkov in, ali je možno spremeniti formulacijske oblike bakrovih pripravkov na način, da bi ohranili biotično učinkovitost proti povzročiteljem bolezni pri nekaj desetkrat manjših odmerkih?

Nekatere možne odgovore na ti dve vprašanji želimo predstaviti v tem prispevku. Bakrovi pripravki so velik paradoks sodobnega časa. Po eni strani so temelj varstva proti mnogim boleznim v ekološkem kmetijstvu, po drugi strani, pa ne izpolnjujejo pričakovanj, glede toksikoloških lastnosti, ki jih morajo izpolnjevati sodobni pripravki za varstvo rastlin v integrirani in konvencionalni pridelavi. Tudi v Sloveniji bi morali izdelati jasne strategije glede uporabe bakrovih pripravkov v varstvu rastlin v bodoče, posebej še zato, ker se veliko govori o potrebi po občutnejšem uvajanju ekoloških pridelovalnih sistemov. Ta prispevek skuša podati nekatere podlage za oceno možnosti za korake v tej smeri.

2 METODE DELA

V prispevku želimo predstaviti pregled nekaterih aktivnosti v Evropi s katerimi skušajo evropske države občutno zmanjšati porabo bakrovih pripravkov, bodisi na način, da razvijajo alternativne pripravke za popolno prenehanje uporabe (predvsem za ekološko kmetijstvo), ali da spreminjajo formulacijske oblike in pri tem skušajo doseči občutno zmanjšanje letnih hektarskih odmerkov. Slovenija ni posebej aktivna pri nobeni smeri raziskovanja, zato se moramo učiti na tujih izkušnjah. V prispevku podajamo osredotočen pregled dogajanj pri zatiranju treh gospodarsko pomembnih bolezni: peronospore vinske trte (*Plasmopara viticola*), jablanovega škrlupa (*Ventura inaequalis*) in krompirjeve plesni (*Phytophthora infestans*). Pregledali smo nekatere javno dostopne rezultate velikih raziskovalnih projektov, kot so na primer Repco, Blight-MOP, StopScab, Öko-Symphit, TruFood in nekaj državnih strategij za zmanjšanje porabe bakrovih pripravkov. Na podlagi pregleda nekaterih objav smo izdelali preglednice v katerih je prikazana primerjava učinkovitosti alternativnih pripravkov glede na učinkovitost bakrovih pripravkov. Podatki v preglednicah so »sintetični« in zajemajo pavšalne pričakovane intervalne vrednosti v nekih povprečnih poskusnih razmerah uporabe. Glavni namen prikaza ni posredovanje absolutnih številčnih vrednosti, temveč le podajanje ocene o tem, koliko se alternativni pripravki po doseženi učinkovitosti lahko približajo bakrovim pripravkom. Absolutne učinkovitosti alternativnih pripravkov niso prikazane kot neposredni citati, ker bi prispevek sicer bil preveč obsežen. Za analizo absolutnih vrednosti je s strani zainteresiranih potreben podrobnejši pregled citirane literature.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Razumevanje neugodnih ekotoksikoloških učinkov bakrovih spojin

Osnova dejstva so povzeta po: Anonimno, 1988; Georgopoulos *et al.*, 2001; Van-Zwieten *et al.*, 2004, 2007; Borkow in Gabbay 2007 in Anonimno, 2008. Bakrovi ioni se po vstopu v celice živih organizmov neselektivno in močno vežejo v številne organske molekule zastopane v njih. To so molekule encimov, ki usmerjajo potek življenjskih reakcij, splošne strukturne molekule (npr. strukture biotičnih membran) in tudi molekule dedne snovi (DNK, RNK, ...). Vezava nanje ima za posledico različne oblike akutnih ali kroničnih poškodb, ki se izrazijo na celičnem in tkivnem nivoju, kot tudi na funkcionalnem ter razmnoževalnem nivoju prizadetih organizmov. Na splošno bakrovih pripravkov ne štejemo, kot toksikološko neposredno akutno zelo nevarne za izvajalce aplikacije pripravkov (Anonimno, 2008). Prav tako ni jasnih dokazov o rakotvornosti, reproduktivni toksičnosti ali učinku hormonskih motilcev. Akutnih zastrupitev z bakrovimi pripravki v kmetijstvu (ljudje, domače in divje živali) je malo, čeprav je po ocenah EFSA (Anonimno, 2008b) potencialno tveganje za sesalce ocenjeno kot visoko, tako v akutnem, kot v kroničnem pogledu. Visoko dolgoročno tveganje je navedeno za deževnike (Anonimno, 2008b). Ker je baker zelo trajno onesnaževalo so posebej izraženi kronični učinki, ki jih težko količinsko opredelimo. Prizadeti so torej vsi živi organizmi, ki ne uspejo preprečiti vstopa bakrovih ionov v njihov telesni sestav. Posebej so izpostavljeni organizmi talne mikro in makro favne ter vodni organizmi. V ekološkem kmetijstvu so tudi težave pri združevanju pridelave v trajnih nasadih z živinorejo, kjer v nasadih pasemo drobnico, govedo ali celo perutnino. Pri takšnih načinih pridelovanja lahko domače živali zaužijejo velike količine bakra s krmo.

3.2 Razumevanje formulacijske strukture bakrovih pripravkov

Baker primarno deluje zatiralno na ciljne organizme tako, da prosti bakrovi ioni (Cu^{++}) v vodotopni obliki vstopajo v notranjost njihovih celic (troši in micelijih gliv, celice bakterij, ...) in se vežejo na encime, ki ne morejo več opravljati svoje funkcije. Poznamo tudi druge mehanizme delovanja, kjer baker deluje zunanje na celične stene in membrane gliv in bakterij, ne da bi vstopal globoko v notranjost. To so mehanizmi, ki so pomembni za izrazito netopne oblike, kot so na primer bakrovi oksidi in oksikloridi. Pri takšnih bakrovih spojinah patogeni organizmi izločijo sekundarne metabolite, ki reagirajo z bakrovimi spojinami in sami omogočijo njihovo razstrupitev z nastalimi bakrovimi kompleksi. Bakrovi pripravki lahko temeljijo na več kot 40 različnih bakrovih spojinah (glej preglednico 1). Najbolj znane in pri nas pogosto uporabljene so bakrovi sulfati, kloridi, oksidi, hidroksidi in oksikloridi.

Pri formulaciji pripravkov izdelovalci težijo k idealnemu razmerju med topnostjo in obstojnostjo fungicidne obloge. S povečevanjem topnosti se poveča hitrost sproščanja ionov, hitrost spiranja obloge in obseg prodiranja ionov v tretirane rastline. Tako se na primer sulfati bistveno hitreje sproščajo od hidroksidov in ti hitreje od oksikloridov. Povečan vstop v rastline, kot posledica povečane topnosti ali kompleksne vezave bakra na nosilne spojine (beljakovine, aminokisliline, EDTA, maščobne kisline, ...) ima dobre in slabe posledice. Dobro je to, da na tak način dobimo polysistemične ali celo sistemične komplekse, ki imajo tudi notranjo in kurativno učinkovitost proti glivam in bakterijam. Hkrati pa se zaradi povečanega vstopa v rastline poveča fitotoksičnost in vsebnost ostankov v plodovih. Za nekatere starejše formulacije je bilo značilno, da se je baker iz fungicidne obloge zaradi zelo nizke topnosti sprostil le v zelo majhnem obsegu. Praktično je to pomenilo, da je v biološko aktivno obliko Cu^{++} ionov iz obloge v nekaterih primerih prešlo celo manj kot 1 % od skupne količine nanesenega bakra. To je pomenilo, da se je na primer pri letnem nanosu 4000 g Cu^{++} / ha iz

obloge nekega pripravka sprostito manj kot 40 g Cu⁺⁺ / ha, ki so dejansko opravili biotični zatiralni učinek. Vsa ostala nanosena količina je bila biotično neizrabljena in je predstavljala zgolj stranski odpadni produkt in nepotreben kontaminant okolja. Za doseganje učinka smo torej potrebovali le nekaj deset gramov, nanosli pa smo nekaj tisoč gramov. Primer ilustrira, kako nesmotrno smo delovali v preteklosti in kopičenje v tleh je posledica izredno nizkega biotičnega izkoristka nanosenih pripravkov. V zadnjih desetletjih in v prejšnjem stoletju smo morda porabili toliko pripravkov, da bi z njimi pri izboljšanih formulacijskih oblikah lahko rastline proti boleznim varovali kar nekaj stoletij.

Naloga sodobnih formulacij je torej bistveno povečati biotični izkoristek nanosenega bakra. Samo s povečanjem topnosti to ne gre. Če občutno povečamo topnost nam oblogo izpere dež, preden bakrovi ioni opravijo zatiralni učinek. Tudi v tem primeru je končni izkoristek slab. Prava pot je nekje vmes, v sistemu fungicidne obloge s kontroliranim dolgotrajnim sproščanjem bakrovih ionov. Razlike v topnosti bakra v različnih formulacijah se lahko razlikujejo za nekaj 1000 krat. Tako so na primer prosti bakrovi sulfati vsaj 2000 krat bolj topni od nekaterih oblik bakrovih hidroksidov in celo nekaj deset tisoč krat od bakrovih oksidov. Upoštevati moramo tudi, da tekočine na površju rastlin niso nevtralne temveč lahko imajo zaradi atmosferskih vplivov in rastlinskih izločkov zelo različne pH vrednosti, kar ima velik vpliv na topnost bakrovih spojin. Pomembno vlogo pri sproščanju ionov ima velikost delcev fungicidne obloge in tip kristalov iz katerih je grajena obloga (mreža, paličice, snežinke, ...). Z zmanjševanjem delcev (celo pod 0,1 μm – nano formulacije) se precej poveča topnost in aktivnost, vendar lahko nano delci hkrati povečajo nekatera toksikološka tveganja (vdihavanje).

Preglednica 1: Nekatere formulacijske oblike bakrovih pripravkov, ki jih uporabljamo v varstvu rastlin pred boleznimi

Komercialno ime pripravka	Kemična oblika bakra	Vsebnost Cu (%)
CUPRABLAU	Cu-hidroksid (dodatki Zn,)	34-36
CINKARNA PFCu	Cu-hidroksid-EDTA kompleks (poskus. form.)	5-10
CHAMPION, KOCIDE	Cu-hidroksid	50
FUNGURAN, RAMIN	Cu-oksiklorid	50
MODRE GALICE	Cu-sulfat pentahidrat + razni dodatki	10-20
PROTEX - CU	Cu-sulfat - čiste raztopine brez pH regulatorja	5-6
BORDOJSKA BROZGA	Cu-sulfat + dodatki za regulacijo pH	20-25
KUPRO	Cu-oksi-sulfat + dodatki za regulacijo pH	18-20
COBRE NORDOX	Cu-oksidi (črni baker)	50-70
COPTREL	Cu-oksidi – sečnina kompleks	30-35
COPPER ACETATE	Cu-acetat	10-15
CUEVA	Cu-oktanoat (kompleks maščobne kisline)	10
LIQUICOP	Cu-amonij-acetat	8-10
CELTIC	Cu-amonij-klorid-hidrat	5-10
BIOACUMEN	Cu-pektinat (kompleks s pektini)	5-10
LABICUPER	Cu-glukonat	8-10
RAZNI PRIPRAVKI	Cu-oleat, Cu-kvinolinat, Cu-stearat, ...	5-10
COPPER CB	Cu-karbonat	40-50
SP-URANIA KUPFER	Cu-tio-laktat	5-7
COPPER PROTEIN	Cu-klorid-peptidat (kompleks s proteini)	2-3
NATURAM, PEPTIRAM	Cu-aminokislinski kompleksi	5-7

Iz številnih poskusov raziskovalci v industriji natančno vedo, kolikšne so minimalne koncentracije bakrovih ionov v raztopinah na površju rastlinskih organov, da zatrejo kaleče konidije škrlupa ali kaleče zoospore peronosporne vinske trte in fitofitore krompirja. Te koncentracije se gibljejo med 1 in 5 mmol Cu⁺⁺ na liter. Cilj pri formuliranju pripravkov je

torej zagotavljati konstantno minimalno potrebno koncentracijo v raztopini na površju omočenih rastlinskih organov. Iz ciljne koncentracije lahko, glede na izkoristek bakrovih ionov iz obloge natančno izračunamo, koliko pripravka je potrebno nanesti na hektar nasada, da bomo vzpostavili želeno koncentracijo za neko znano časovno obdobje. Izdelovalci pripravkov skušajo narediti takšne formulacije, ki bi vsebovale različne oblike bakrovih kompleksov s kemijsko časovno kontroliranim sproščanjem. Izdelava takšnih pripravkov zahteva veliko raziskovalnih naporov in je draga. Bakrovi pripravki so na splošno vedno veljali za cenene. V poslovnem smislu ponudniki pripravkov težko združijo drago vrhunsko tehnološko proizvodnjo s cenanim pripravkom. Če temu dodamo še veliko negotovost glede uveljavitve novih toksikoloških kriterijev (angl. cut off criteria) je pripravljenost industrije za vlaganja za posodabljanje formulacij majhna. Lahko se zgodi, da ob zaostitvi toksikoloških kriterijev kemična industrija preprosto ne bo več pripravljena vlagati v proizvodnjo bakrovih pripravkov. To lahko še dodatno pospeši umikanje le teh iz uporabe.

Preglednica 2: Povprečne pričakovane učinkovitosti (%), Abbot) biotičnih pripravkov pri vsaj 8 do 10 preventivnih nanosih polnih odmerkov za zatiranje peronospore vinske trte v primerjavi z učinkovitostjo 6 do 8 nanosov (vsakič vsaj 200 g Cu⁺⁺ / ha) klasičnih bakrovih pripravkov (K Cu) in novih formulacij bakrovih pripravkov (NF Cu)

Komercialni naziv pripravka	Aktivna snov:	Učinkovitost (%), Abbott)
TRICHODEX	gliva <i>Trichoderma</i> sp.	50-70 %
SERENADE	bakterija <i>Bacillus subtilis</i>	50-60 %
CLONOTRI	gliva <i>Trichoderma</i> sp. + <i>Clonstachis rosea</i>	70-80 %
AGAT – 25 K	Produkti fermentacije <i>Pseudomonas aureofaciens</i>	50-60 %
MYCOSIN	Obogateni minerali glin + rastlinski izvlečki	50-75 %
ULMASUD	Obogateni minerali glin	50-70 %
ELOT-Vis forte	Alkoholni izvlečki rastlin	45-55 %
FERTIFEUILLE	Izvlečki in razkrojki iz mahov	30-50 %
PHYTO-VITAL	Razkrojki lignina	30-45 %
SAPONIN, YUCCA ext.	Izvlečki rastlin iz rodu <i>Yucca</i> (<i>Y. schidigera</i>)	50-60 %
SAULE ext.	Izvlečki rastlin iz rodu <i>Salix</i> (<i>Salix</i> sp.)	45-60 %
INULEX	Izvlečki rastlin iz rodu <i>Inula</i> (<i>I. viscosa</i>)	30-50 %
NOVOSIL	Izvlečki rastlin iz rodu <i>Abies</i> (<i>A. sibirica</i>)	30-50 %
TIMOREX	Izvlečki rastlin čajevca (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	20-40 %
LIQUORICE	Izvlečki rastlin <i>Glycyrrhiza glabra</i>	20-30 %
TRAPPER	Izvlečki plodov (tropin) pomaranč	40-45 %
TECNOBIOL	Kalijeve soli aktivirane v maščobnih kislinah	50-75 %
CHITOPANT	Izvlečki in razkrojki iz hitinjač rakov	35-50 %
KBV 99 Koppert	Raztopina laktoperoksidaznih encimov	50-60 %
FITOCLIN-BIO	Raztopina klinoptiolitov	50-65 %
ARMIKARB	Kalijev bikarbonat	60-80 %
FOSFIDOR	Kalijev fosfonat	50-80 %
K Cu	Cu-hidroksidi, Cu-sulfati, Cu-oksikloridi, ...	70-85 %
NF Cu npr. Labicuper, Cueva, Naturam, ...	Cu-aminokompleksi, Cu-oktanoati, Cu-glukonati, Cu-EDTA kompleksi, ...	80-95 %

3.3 Alternative bakru pri zatiranju peronospore vinske trte

Pri integrirani pridelavi grozdja je ponudba organskih fungicidov za zatiranje glive povzročiteljice peronospore tako velika, da ni velike potrebe za uporabo bakrovih pripravkov in bi se jim lahko v celoti odpovedali, če bi prišlo do popolne zaostitve ekoloških kriterijev. Pri ekološkem varstvu vinske trte pa ni tako. Osnovni alternativni pripravki na podlagi

rastlinskih izločkov v kombinaciji z minerali glin in manjšim številom biotičnih agensov, pri občutljivih sortah ne nudijo povsem zanesljivega varstva. Trenutna ponudba na peronosporo odpornih sort je premajhna. V preglednici 2 so predstavljeni sintetizirani rezultati nekaterih poskusov iz naslednjih bibliografskih virov: Pertot *et al.*, 2002, 2005; Berkelmann, 2003; Dagostin *et al.*, 2004, 2005, 2006, 2007; Gomez *et al.*, 2007; Mohr *et al.* 2007a, b; Tamm *et al.*, 2008. Kakšne bi bile razmere v ekološkem vinogradništvu ob popolni prepovedi bakrovih pripravkov je težko napovedati. Nekateri poskusi kažejo, da bi bilo ob zelo intenzivni uporabi alternativnih pripravkov (morda kakšnih 15-20 škropljenj letno) možno shajati brez njih. V nadpovprečno težkih letih, pri manj odpornih sortah bi se pač bilo preprosto potrebno sprijazniti z zmernimi (30-50%) občasnimi izgubami pridelkov.

3.4 Alternative bakru pri zatiranju jablanovega škrlupa

Glede odpornosti sort proti škrlupu imamo pri jablanah bistveno boljšo izbiro, kot pri sortah vinske trte odpornih na peronosporo. Izbor pripravkov primernih za ekološko pridelavo jabolk, je podoben tistemu, ki je na voljo v ekoloških vinogradih. Olajševalna okoliščina pri jablanah je to, da na škrlup dobro delujejo tudi žveplovi pripravki. Oteževalna to, da kupci pri eko-jabolkah pričakujejo povsem enako kakovost, kot pri konvencionalnih.

Preglednica 3: Povprečne pričakovane učinkovitosti (% Abbott) biotičnih pripravkov pri vsaj 12 do 14 preventivnih nanosih polnih odmerkov za zatiranje jablanovega škrlupa v primerjavi z učinkovitostjo 8 do 10 nanosov (vsakič vsaj 200 g Cu⁺⁺ / ha) klasičnih bakrovih pripravkov (K Cu) in novih formulacij bakrovih pripravkov (NF Cu)

Kom. naziv pripravka	Aktivna snov	Učinkovitost (% Abbott)
TRICHODEX	gliva <i>Trichoderma</i> sp.	15-30 %
SERENADE	bakterija <i>Bacillus subtilis</i>	30-60 %
CLONOTRI	gliva <i>Trichoderma</i> sp. + <i>Clonostachis rosea</i>	30-45 %
MYCOSIN	Minerali glin (poletno obdobje, ne pred cvetenjem)	30-50 %
ULMASUD	Minerali glin (poletno obdobje, ne pred cvetenjem)	40-50 %
OEKOFLUID P	Minerali glin + lecitin + humusni izvlečki	30-45 %
FERTIFEUILLE, razni. pripr.	Izvečki in razkrojki mahov	10-25 %
NEUDOVITAL, razni. pripr.	Izvečki in razkrojki morskih alg + dodatki	10-30 %
IZVLEČKI KOMPOSTOV	Pripravki iz svežih ali prekuhanih kompostov	10-20 %
YUCCA ext., SAPONIN	Izvečki rastlin iz rodu <i>Yucca</i> (<i>Y. schidigera</i>)	40-70 %
SAULE ext.	Izvečki rastlin iz rodu <i>Salix</i> (<i>Salix</i> sp.)	20-25 %
INULEX	Izvečki rastlin iz rodu <i>Inula</i> (<i>I. viscosa</i>)	15-25 %
NOVOSIL	Izvečki rastlin iz rodu <i>Abies</i> (<i>A. sibirica</i>)	30-40 %
TIMOREX	Izvečki rastlin čajevca (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	20-35 %
TRAPPER, CITROX	Izločki plodov pomaranč (flavonoidni citrati)	30-45 %
ELIOT-VIS	Alkoholni izvlečki rastlin	10-20 %
MILSANA	Izločki rastlin <i>Reynoutria</i> sp.	10-20 %
QUILLAJA ext., QUIPONIN	Izločki rastlin <i>Quilaja saponaria</i>	60-75%
c-PRO	Izvečki iz jabolčnih pešk	30-40 %
TECNOBIOL	Kalijeve soli aktivirane v maščobnih kislinah	30-45 %
CHITOPLANT	Izvečki iz hitinjač rakov	30-40 %
ŽVEPLO	Žveplo - ventilirano (slab učinek pred cvetenjem)	40-60 %
ŽVEPLO	Ca – polisulfid (izboljššan učinek pred cvetenjem)	35-75 %
ARMIKARB, ECOCARB	Kalijev bikarbonat	50-75 %
FOSFIDOR	Kalijev fosfonat	50-75 %
K Cu	Cu-hidroksidi, Cu-sulfati, Cu-oksikloridi, ...	50-75 %
NF Cu	Cu-oktanoati, Cu-glukonati, Cu-EDTA	60-90 %

Podatki za oblikovanje preglednice 3 so povzeti po naslednjih virih: Golba, 2001; Goebel *et al.*, 2004; Lindhard *et al.*, 2004; Jong in Heijne, 2006; Köhl *et al.*, 2006; Bengtsson in Hockenhull, 2002, 2006; Bengtsson *et al.*, 2006; Kelderer *et al.*, 2006; Eiben in Lüth 2006; Pedersen *et al.*, 2006; Heijne *et al.*, 2006a, b, 2007; Anonimno, 2007a, c.

V mnogih eko-pridelovalnih območjih so uspešno zmanjšali porabo bakrovih pripravkov prav na račun občutno povečane porabe žveplovih pripravkov. To še posebej velja za dežele, ki so uporabo bakrovih pripravkov že prepovedale (npr. Danska). Zelo obetavni so pripravki na podlagi kalijevega karbonata, bikarbonata ali hidrogenkarbonata, kalijevih fosfonatov in njihovih kombinacij z nekaterimi rastlinskimi izvlečki (npr. yucca izvleček). Z intenzivnim škropilnim programom na podlagi žvepla, kalijevih karbonatov, mineralov glin in nekaterih rastlinskih izvlečkov (20-30 škropljenje letno) se lahko proti škrlupu uspešno borimo tudi pri dokaj občutljivih sortah. Pomemben del nove-stare strategije je pospešitev razpadanja listja z uporabo gliv razkrojevalk, ki onemogočijo razvoj saprofitske forme glive *V. inaequalis* v listju čez zimo. Preveliki ostanki bakra v listju lahko otežujejo antagonistično delovanje omenjenih gliv in razkroj listja s strani deževnikov. Seveda pa obstaja potreba po uporabi bakrovih pripravkov pri jablanah vsaj še proti jablanovemu raku (*Nectria galligena*), hruševem bakterijskem ožigu (*Erwina amylovora*) in bakterijskem ožigu skorje (*Pseudomonas syringae*).

3.5 Alternative bakru pri zatiranju krompirjeve plesni

Lahko bi rekli, da so možnosti za prenehanje uporabe bakrovih pripravkov pri krompirju v naših razmerah najslabše. Tudi pri integrirani in konvencionalni pridelavi krompirja bakrovi pripravki na začetku in pred sklepom rastne dobe pridejo zelo prav, da zmanjšamo selekcijski pritisk na glivo povzročiteljico plesni in s tem upočasnimo razvoj odpornosti na organske fungicide. V konvencionalni pridelavi bi bilo možno takoj opustiti uporabo bakrovih pripravkov. Napredek pri vzgoji novih, na plesen odpornih sort krompirja je občuten. Velik pomen dajejo hitrosti razvoja in sposobnosti črpanja hranil iz tal zgodaj spomladi, ko je dostop hranil zelo omejen zaradi majhne aktivnosti mikrobov. Takšne sorte oblikujejo glavno zasnovano pridelka že pred obdobjem, ko fitoftora lahko v kratkem času uniči velik del listja. Pri sortah, ki imajo zelo hitro fazo oblikovanja pridelka, se lahko pridelek bistveno poveča (celo za 20 %), tudi če rastno dobo podaljšamo samo za 5-7 dni. Z uporabo alternativnih pripravkov je podaljšanje rastne dobe pri novih odpornih sortah za kakšnih 10 dni povsem možno doseči in s tem že lahko rešimo 30 % pridelka. Velik pomen dajejo tudi sistemu sajenja na način, da so čim manjše enote krompirišč razpršeno porazdelijo med drugimi poljščinami, ki predstavljajo bariero za potovanje zoospor z zračnimi tokovi. Rezultati poskusov kažejo, da se uspešnost varstva poveča pri sistematičnem kombiniranju večjega števila alternativnih pripravkov, med katerimi očitno prihaja do sinergističnih SAR in drugih učinkov (to v preglednici 4 ni vidno). Glavna težava eko-pripravkov je neobstočnost med dežjem. Precej obetavni so tudi pripravki na podlagi bakterij iz rodov *Pseudomonas* in *Xenorhabdus*. Očitno se krompir da pridelovati brez bakrovih pripravkov, kar dokazujejo v Skandinaviji, kjer so uporabo bakra prepovedali (Tamm *et al.*, 2006).

Podatki za preglednico 4 so povzeti po naslednjih virih: Elad *et al.*, 2002; Zarb *et al.*, 2002; Paffrath, 2003; Röhner *et al.*, 2004; Anonimno, 2005; Tamm *et al.*, 2006; Ghorbani *et al.*, 2004, 2005; Hadwiger *et al.*, 2006; Speiser *et al.*, 2006; Anonimno, 2007b; Benker *et al.*, 2007; Dorn *et al.*, 2007 in Leifert, 2009.

3.6 Dogajanje in pristopi v Sloveniji

Slovenija trenutno nima izdelanih jasnih strategij za zmanjševanje uporabe bakrovih pripravkov, niti strategij za primer, da se v EU pojavi splošna prepoved uporabe zaradi neizpolnjevanja novih toksikoloških kriterijev. Glede na povprečne vsebnosti bakra v naših trajnih nasadih (večinoma pod 100 mg/kg tal) trenutno še ni potrebe za zaskrbljenost in kakšne izredne ukrepe. Ob nepripravljenosti zaradi prepovedi bi verjetno bili najbolj prizadeti predvsem eko-vinogradniki, saj je trenutna ponudba alternativnih pripravkov na slovenskem trgu zelo slaba. Težava je v tem, da bo v bodoče večino alternativnih pripravkov z dokaj dobrim delovanjem proti peronospori potrebno registrirati kot običajna FFS in uporaba, kot do sedaj, ko so uvrščeni v kategorijo sredstev za nego rastlin, ne bo več možna.

Preglednica 4: Povprečne pričakovane učinkovitosti (%; Abbott) biotičnih pripravkov pri vsaj 10 do 12 preventivnih nanosih polnih odmerkov za zatiranje krompirjeve plesni v primerjavi z učinkovitostjo 6 do 8 nanosov (vsakič vsaj 200 g Cu⁺⁺ / ha) klasičnih bakrovih pripravkov (K Cu) in novih formulacij bakrovih pripravkov (NF Cu)

Kom. naziv pripravka	Aktivna snov	Učinkovitost (%; Abbott)
TRICHODEX	Gliva <i>Trichoderma</i> sp.	20-30 %
PROMOT	Gliva <i>T. harzianum</i> + <i>T. koningii</i>	20-40 %
MB1600, SERENADE	bakterija <i>Bacillus subtilis</i>	35-55 %
CLONOTRI	gliva <i>Trichoderma</i> sp. + <i>Clonstachis rosea</i>	20-35 %
AGAT-25K	Produkti fermentacije <i>Pseudomonas aureofaciens</i>	30-50 %
MYCOSIN	Obogateni minerali glin + rastlinski izvlečki	40-65 %
ULMASUD	Obogateni minerali glin	35-55 %
OEKOFLUID P	Minerali glin + lecitin + humusni izvlečki	40-50 %
FERTIFEUILLE	Razkrojki mahov	10-25 %
SPHAGNUM EXT.	Razkrojki mahov	10-15 %
LEBERMOOSER	Izvlečki iz mahov	10-20 %
RAZNI PRIPRAVKI	Razkrojki morskih alg	20-35 %
DUCKWEED EXT.	Gnojilo iz vodnih leč Lemnaceae	10-15 %
SEAWEED EXT.	Izvlečki iz <i>Ascophyllum nodosum</i>	10-15 %
KOMPOST IZVLEČKI	Razni načini priprave izvlečkov – sveži	10-25 %
KOMPOST IZVLEČKI	Razni načini priprave izvlečkov – avtoklavirani	10-25 %
RABARBARA EXT.	Izvlečki <i>Rheum rhabarbarum</i>	30-45 %
SOLIDAGO EXTR.	Izvlečki <i>Solidago canadensis</i>	25-30 %
HEDERA EXTR.	Izvlečki <i>Hedera helix</i>	30-40 %
PAEONIA EXTR.	Izvlečki <i>Paeonia suffruticosa</i>	20-30 %
COMCAT	Okrepčevalec rastlin – rastlinski hormoni	10-15 %
BIOPLANTOL	Okrepčevalec rastlin – huminski derivati	10-15 %
ELOT-VIS	Alkoholni izvlečki rastlin	20-30 %
KENDAL	Rastlinski izvlečki in koncentrirani oligosaharidi	10-15 %
CHITOSAN, CHITOPANT	Izvlečki iz hitinjač rakov (GLUKOZAMIN)	40-50 %
POSKUSNE FORM.	<i>Xenorhabdus bovienii</i>	40-50 %
POSKUSNE FORM.	<i>Pseudomonas putida</i> (I-112)	50-65 %
POSKUSNE FORM	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	35-55 %
K Cu	Cu-hidroksidi, Cu-sulfati, Cu-oksikloridi, ...	70-95 %
NF Cu	Cu-oktanoati, Cu-glukonati, Cu-peptidati	85-95 %

Predvsem za ekološko vinogradništvo bi bilo dobro čimprej razmisliti o registraciji pripravkov na podlagi kalijevih karbonatov (npr. Armikarb in Salukarb) ali fosfonatov. Ekološka pridelava krompirja pri nas je izredno skromna tako, da tukaj večjih težav še ni pričakovati. Pri ekološki pridelavi jabolk pa smo srednje odvisni od bakrovih pripravkov.

Glede na trenutno stanje ocenjujemo, da bi se ob dovolj hitri uvedbi novih sort lahko hitro prilagodili in znali pridelati eko-jabolka brez uporabe bakrovih pripravkov.

V letu 2008 smo v okviru raziskav o možnosti zatiranja hruševega ožiga v nasadih jablan naredili primerjave lastnosti nekaterih standardnih bakrovih formulacij z novejšimi, tako imenovanimi sistemičnimi kompleksnimi bakri. Prvi rezultati kažejo, da lahko imajo kompleksne oblike višjo učinkovitost proti škrlupu, da so večinoma bolj agresivne in povzročajo nekaj večjo fitotoksičnost in, da so vsebnosti bakra po njihovi uporabi v plodovih ob obiranju višje, kot pri standardnih formulacijah. Zadnje ni povsem nepomembno. MRL vrednosti za ostanke bakra v jabolkih se znižujejo. Trenutno smo na meji 5 mg/kg. V poskusih v letu 2008 smo po 12 nanosih 200 g Cu⁺⁺ na hektar letno med rastno dobo v plodovih ob obiranju jeseni beležili ostanke na nivoju od 2 do 3,5 mg/kg, kar je približno 50-70 % trenutnih MRL vrednosti. Rezultati kažejo, da tudi ob intenzivni uporabi klasičnih in novih formulacij med rastno dobo v manjših odmerkih (200 – 250 g Cu⁺⁺/ha) ni nevarnosti za prevelike ostanke v plodovih jeseni.

Domača industrija (podjetje Cinakarna Celje, d.d.) se je odločila za razvoj novih kompleksnih bakrovih pripravkov s katerimi bi pospešili prehod v dobo zmanjšane porabe bakrovih pripravkov. Ocenjujemo, da bi pri novih formulacijah (Cu-EDTA, Cu-glukonati, Cu-peptidati, Cu-oktanoati, ...) lahko izvajali uspešno varstvo proti večini pomembnih, od uporabe bakra odvisnih boleznih, s porabo manj kot 2000 g Cu⁺⁺ na hektar letno kumulativno, kar je kar trikrat manj, kot so omejitve po sedaj veljavnih EU direktivah, ki govorijo o še dopustnem letnem vnosu na nivoju 6000 g Cu⁺⁺ na hektar letno.

4 SKLEPI

- glede na lokalno presežene še dopustne koncentracije bakra v tleh (nad 100-150 mg Cu / kg zemlje) so omejitve porabe bakrovih pripravkov potrebne in neizbežne.
- omejitve za posamezne specifične površine bi bilo potrebno vezati na realno ugotovljeno vsebnost bakra v tleh. Glede na stanje onesnaženosti izkazano z analizo (območja z 100 do 150 mg Cu na kg zemlje) bi bilo potrebno določiti vsaj 20-30 letno shemo porabe po letih za vsako specifično onesnaženo zemljišče in ugotovljeno koncentracijo.
- industrija pri večjem številu boleznih še ni ponudila tako učinkovitih alternativnih pripravkov, ki bi lahko v popolnosti nadomestili bakrove pripravke, zato bi takojšnja popolna prepoved uporabe bakrovih pripravkov lahko povzročila precejšnjo gospodarsko škodo.
- potrebno je bistveno spremeniti formulacije pripravkov, na način, da se biotična aktivnost bakra poveča vsaj za 10 krat. S tem bi lahko bistveno, tudi za 10 krat, zmanjšali potrebne letne odmerke čistega bakra na hektar. Bolezni bi lahko uspešno zatirali z manj kot 1500-2000 g Cu⁺⁺ kumulativno na hektar letno.
- v nasadih, kjer so vsebnosti bakra v tleh visoke (nad 100 mg Cu na kg zemlje), bi smeli uporabljati le takšne formulacije bakrovih pripravkov, pri katerih so hektarski odmerki čistega bakra manjši vsaj za dva ali trikrat, kot pri standardnih formulacijah. To so na primer Cu-oktanoati, Cu-glukonati, Cu-pektinati, Cu-EDTA kompleksi in Cu-peptidati.
- pripravki na podlagi visoko sistemičnih bakrovih kompleksov imajo sicer izrazito povečano biotično učinkovitosti, vendar se lahko pojavijo težave zaradi prevelikih ostankov v plodovih rastlin, poveča se lahko mobilnost kompleksov skozi plasti tal.
- za doseganje ustreznega razmerja med učinkovitostjo, rezidualnostjo in fitotoksičnostjo bi v formulacijah bilo smiselno, v različnih razmerjih kombinirati različne oblike kompleksov in standardnih prostih bakrovih spojin.

- potrebne so specifične formulacije bakrovih pripravkov, prilagojene za specifične vrste gojenih rastlin.

5 LITERATURA

- Anonimno, Copper Development Association. 1988. CDA Publication TN35, Copper in Plant, Animal and Human Nutrition, 109 s. (www.copperinfo.co.uk)
- Anonimno, 2005. FINAL REPORT: QLK5-CT-2000- 01065, Blight-MOP: Development of a systems approach for the management of late blight (caused by *Phytophthora infestans*) in EU organic potato production. (Chapter 6, Chapter 10), 538 s. (http://orgprints.org/10650/07/leifert-wilcockson-2005-blight_mop-report-chapter6.pdf)
- Anonimno, REPCO, 2007a. Replacement of Copper Fungicides in Organic Production of Grapevine and Apple in Europe. Specific Targeted Research Project, Priority 8.1 Policy-oriented research. Publishable Final Activity Report, 73 s. (http://www.repco.nl/Documents/Publ%20Executive%20Summaries/REPCO%20Final_executive_summary.pdf)
- Anonimno, Pesticide action network, 2007b. State of the art of Integrated Crop Management & Organic systems in Europe, with particular reference to pest management at Potato production. 65 s. (http://www.pan-europe.info/Resources/Reports/Potato_production_review.pdf)
- Anonimno, 2007c. Projektantrag im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau Themenkomplex „Pflanzliche Erzeugung“ Projektnummer 06OE324. Erarbeitung einer Strategie zur Reduzierung des Kupfereinsatzes bei der Apfelschorfbekämpfung im ökologischen Obstbau. (http://orgprints.org/15178/01/Projektantrag_Kupfer_06OE324.pdf)
- Anonimno, 2008. US Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs - Copper Facts. EPA Document 738-F-06-14.
- Anonimno, EFSA, 2008b. Conclusion on the peer review of copper compounds. Summary of the EFSA Scientific Report 187, 1-101. (www.efsa.europa.eu).
- Benker, M., Zellner, M., Bangemann, L.W., Kleinhenz, B., Bartels, G. 2007. Strategien zur Reduzierung der Kupferaufwandmengen im ökologischen Kartoffelanbau - Projekt „ÖKO-SIMPHYT“. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft. 34 s. (http://orgprints.org/13831/01/LfL_Benker_2007_kupferred_kartoffelanbau_13831.pdf)
- Berkelmann-Lohnertz, B. 2003. Kupferersatz im ökologischen Weinbau. 34 s. (<http://orgprints.org/2905/01/2905-02OE190-ble-geisenheim-2003-kupferersatz.pdf>)
- Bengtsson, M. in Hockenhull, J. 2002. Control of apple scab (*Venturia inaequalis*) in organic apple growing. StopScab: A Danish research programme for screening substitutes to copper fungicides. 6th International IOBC/WPRS Workshop of Pome Fruit Diseases, Lindau, Germany, 31. August - 5. September 2002. (<http://orgprints.org/9989/>)
- Bengtsson, M., H.J.L. Jørgensen, E., Wulff, E., Hockenhull, J. 2006. Prospecting for organic fungicides and resistance inducers to control scab (*Venturia inaequalis*) in organic apple production. Proceedings from European Joint Organic Congress, 30-31 May, Odense, Denmark, s. 318-319. (<http://orgprints.org/7395/>)
- Bengtsson, M. in Hockenhull, J. 2006. Control of apple scab (*Venturia inaequalis*) in organic apple growing. StopScab: A Danish research programme for screening substitutes to copper fungicides. IOBC / wprs Bulletin, 29(1):1-3.
- Borkow, G. in Gabbay J. 2007. Copper as a biocidal tool. Cupron Inc. Publications, Gibton, Israel, 42. s. (gadi@cupron.com)
- Dagostin, S., Ferrari, A., Pertot, I. 2004. Research report: Integration of different control measures to maximise disease control of *Plasmopara viticola* in Italian organic viticulture (REPCO project). SafeCrop Centre c/o Istituto Agrario, S.Michele all'Adige (Trento) Italy. 47 s.
- Dagostin, S., Ferrari, A., Pertot, I. 2005. Efficacy evaluation of biocontrol agents against downy mildew for copper replacement in organic grapevine production in Europe. IOBC/WPRS Working Group "Integrated Protection and Production in Viticulture", 20-21 October 2005, Boario Terme, Italy. (<http://www.safecrop.org/english/output/posters.html>)
- Dagostin S., Ferrari, A., Pertot, I. 2006. Integration of different control measures to maximise disease control of *Plasmopara viticola*. Italian organic viticulture. Proceedings from European Joint Organic Congress, 30-31 May, Odense, Denmark, s. 338-339. (<http://orgprints.org/7508/>)
- Dagostin, S., Formolo, T., Pertot, I. 2007. Replacement of copper fungicide: Efficacy evaluation of new organic fungicides against downy mildew. IOBC/WPRS Working Group on "Integrated Control in Viticulture", 25-27 Oct 2007, Marsala, Italy. s. 78-90.

- Dorn, B., Musa, M., Krebs, H., Fried P., Forrer, H.R. 2007. Control of late blight in organic potato production: evaluation of copper-free preparations under field, growth chamber and laboratory conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 119 (2): 157-165.
- Eiben, U. in Lüth, P. 2006. Development of novel fungal biocontrol agents. Proceeding from European Joint Organic Congress, 30-31 May, Odense, Denmark, s. 344-346. (<http://orgprints.org/7717/>)
- Elad, Y., Kohl J., Shtienberg, D. 2002. Screening of plant extracts, micro-organisms and commercial preparations for biocontrol of *Phytophthora infestans* on detached potato leaves. *Bulletin Oilb/Srop*, 25: 391–394.
- Ghorbani, R., Wilcockson, S., Leifert S. 2005. Alternative treatments for late blight control in organic potato: Antagonistic micro-organisms and compost extracts for activity against *Phytophthora infestans*. *Potato Research* 48: 181-189.
- Ghorbani, R., Wilcockson, S., Giotis, C., Leifert, C. 2004. Potato late blight management in organic agriculture. *Outlooks on Pest Management*, August 2004: 176-179.
- Georgopoulos, P.G., Roy, A., Yonone-Lioy, M.J., Opiekun, R.E., Lioy, P.J. 2001. Copper: Environmental dynamics and human exposure issues. *Environmental and Occupational Health Sciences Institute (EOHSI)*, Piscataway, Cranford, NJ 07016, 215 s.
- Goebel, G., Kassemeyer, H.H., Düggelin, M., Lehne, J., Simon, A., Riecken, I., Ploss, H. 2004. KUPFER, Entwicklungen zur Reduzierung der Aufwandmengen im Pflanzenschutz. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtsch.* 396: 228 s.
- Golba, B. 2001. Alternativen zum Einsatz von kupferhaltigen Präparaten im Apfelanbau. *Technische Universität München*, München, 71. s.
- Gomez, C., Chovelon, M., Pertot, I., Dagostin, S. 2007. Reserch report – Alternatives au cuivre dans la maîtrise du mildiou de la vigne, Bilan project REPCO, 2004-2007, 27 s.
- Hadwiger, L. A. in McBride, P. O. 2006. Low-level copper plus chitosan applications provide protection against late blight of potato. Online. *Plant Health Progress*. (<http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2006/chitosan/>)
- Heijne, B., De Jong, P.F., Köhl, J. 2006a. EU-Projekt REPCO entwickelt neue Möglichkeiten zur Biologischen Bekämpfung von Apfelschorf. *Öko-Obstbau*, 4:11-13.
- Heijne, B., De Jong, P.F., Köhl, J., Speksnijder, A.G.C.L., Hockenhull, J. Bengtsson, M., Lindhard, H., Pedersen, K., Paaske, U., Eiben, L., Tamm, L., Trapman, M. 2006b. Prevention and control of apple scab. Proceeding from European Joint Organic Congress, 30-31 May, Odense, Denmark, s. 200-201. (<http://orgprints.org/7781/>)
- Heijne, B., De Jong, P.F., Lindhard, H., Pedersen, K., Paaske, M., Bengtsson, M., Hockenhull J. 2007. Field efficacy of new compounds to replace copper for scab control in organic apple production. *Proceedings of the 3rd QLIF Congress*, Hohenheim, Germany, March 20-23, 2007, s. 249-253. (<http://orgprints.org/9449/>)
- De Jong, P.F., Heijne, B. 2006. REPCO contribution to the development of products for apple scab control. Proceeding from European Joint Organic Congress, 30-31 May, Odense, Denmark, s. 342-343. (<http://orgprints.org/7690/>)
- Kelderer, M., Casera, C., Lardschneider, E. 2006. Erste Ergebnisse mit dem Einsatz von K-hydrogencarbonat in Südtirol. *Tagungsband zum 12. Internationalen Erfahrungsaustausch über Forschungsergebnisse zum Ökologischen Obstbau. Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V.* 9-14. (http://orgprints.org/15178/01/Projektrtrag_Kupfer_06OE324.pdf)
- Köhl, J., Heijne, B., Hockenhull, J., Lindhard, H., Pedersen, M., Trapman, M., Eiben, U., Tamm, L. 2006. Contributions of EU-project REPCO to apple scab control. *Proceedings 12th International conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing*. Weinsberg, Germany, 31st January – 2nd February 2006, s. 73-76. (<http://orgprints.org/8820/>)
- Leifert, C. 2009. Blight-MOP: Development of a systems approach for the management of late blight in EU organic potato production. (http://ec.europa.eu/research/agriculture/projects/qlrt_1999_31065_en.htm)
- Lindhard, H., Paaske, K., Bengtsson, M., Hockenhull, J. 2004. Alternative fungicides to control apple scab in organic apple production: results of an orchard trial in 2003. *DARCOFenews* (2). (<http://www.darcof.dk/enews/june04/scab.html>)
- Mohr, H.D., Holder, J., Berkemann-Löhnertz, B. 2007a. Minimierung des Kupfereinsatzes im ökologischen Weinbau unter besonderer Berücksichtigung der Blattbeläge und ihrer Wirkung gegen den Falschen Mehltau (*Plasmopara viticola*) – Teil 1: 2002 bis 2003. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.*, 59, 3: 49–58.

- Mohr, H.D., Holder, J., Berkelmann-Löhnertz, B. 2007b. Minimization of copper use in organic viticulture with special emphasis on leaf spray deposits and their effect against downy mildew (*Plasmopara viticola*) – Part 2: 2004 to 2007, *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.*, 60, 7: 145–156.
- Paffrath, A. 2003. Wirkung verschiedener Pflanzenstärkungsmittel im ökologischen Kartoffelbau. (http://www.oekolandbau.nrw.de/pdf/projekte_versuche/leitbetriebe_2003/16_Pflanzenst_rkungsmittel_KA_03.pdf)
- Pedersen, L., Paaske, K., Bengtsson, M., Hockenhull, J. 2006. Field testing of potential new compounds for apple scab control in organic apple production. *Proceedings from European Joint Organic Congress*, 30-31 May, Odense, Denmark, s. 358-359. (<http://orgprints.org/8039/>)
- Pertot, I., Delaiti, M., Mescalchin, E., Zini, M., Forti, D. 2002. Attività antiperonosporica di nuove formulazioni di composti rameici utilizzati a dosi ridotte e prorotti alternativi al rame impiegabili in viticoltura biologica. *ATTI Giornate Fitopatologiche*, 2:297-302.
- Pertot, I., Gobbin, D., Dagostin, S., Ferrari, A. Gessler, C. 2005. La peronospora della vite. *Publicationi SafeCrop Centre, San Michele all'Adige, Italia*, 64 s. (http://www.safecrop.org/download/free_publications/peronospora_interno.pdf)
- Röhner, E., Carabet, A., Buchenauer, H. 2004. Effectiveness of plant extracts of *Paeonia suffruticosa* and *Hedera helix* against diseases caused by *Phytophthora infestans* in tomato and *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber *Journal of Plant Diseases and Protection* 111, 1: 83-95.
- Speiser, B., Tamm, L., Amsler, T., Lambion, J. 2006. Improvement of late blight management in organic potato production systems in Europe: field tests with more resistant potato varieties and copper based fungicides. *Biological Agriculture and Horticulture*, 23: 393-412.
- Tamm, L., Smit, A.B., Hospers, M., Janssens, S.R.M., Buurma, S., Mřlgaard, J.P., Lórke, P.E., Hansen, H.H., Hermans, A., Břdker, L., Bertrand, C., Lambion, J., Finckh, M.R., Schřler, C., Lammerts van Bueren, E., Ruissen, T., Nielsen, B.J., Solberg, S., Speiser, B., Wolfe, M.S., Phillips, S., Wilcoxon, S., Leifert, C. 2006. Blight-Mop project report: Published by Assessment of the Socio-Economic Impact of Late Blight and State-of-the-Art Management in European Organic Potato Production Systems. 113 s. (<http://www.orgprints.org/2936>).
- Tamm, L., D'Agostin, S., Schaerer, H.J., Pertot, I. 2008. Screening and testing of products for copper replacement in European viticulture. *Joint publication LIFE & UoA*. (<http://library.wur.nl/way/bestanden/clc/1887073.pdf>)
- Van Zwieten, M., Stovold G., Van Zwieten, L. 2007. Alternatives to Copper for Disease Control in the Australian Organic Industry. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC Publication No 07/110, 82. s.
- Van Zwieten L., Merrington, G., Van-Zwieten, M. 2004. Review of impacts on soil biota caused by copper residues from fungicide application. *SuperSoil 2004: 3rd Australian New Zealand Soils Conference*, 5 – 9 December 2004, University of Sydney, Australia. (www.regional.org.au/au/asssi/)
- Van Zwieten, M., Stovold, G., Van Zwieten, L. 2004b. Literature Review and Inventory of Alternatives to Copper for Disease Control in the Australian Organic Industry. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC Project DAN-208A. 101 s.
- Zarb, J., Ghorbani, R., Juntharathap, P., Shotton, P., Santos, J., Wilcockson, S., Leifert, C., Litterick, A.M., Bain, R.A., deBoer, E., Halder, F., Sellers, M., Wolfe, S. 2002. Control strategies for late blight in organic potato production. *Proceedings Crop Protection in Northern Britain Conference*, 2002, s. 243-250.

PREUČEVANJE VPLIVA VARSTVA HMELJA PRED BOLEZNIMI IN ŠKODLJIVCI NA OSTANKE FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV V TLEH IN PODZEMNI VODI V SLOVENIJI

Andrej SIMONČIČ¹, Janez SUŠIN², Helena BAŠA-ČESNIK³, Vida ŽNIDARŠIČ PONGRAC⁴, Špela VELIKONJA BOLTA⁵, Ana GREGORČIČ⁶

^{1,2,3,4,5,6}Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

IZVLEČEK

Hmeljeje ena od gojenih rastlin, ki potrebuje intenzivno varstvo pred boleznimi in škodljivci. Posledično sta zato kljub upoštevanju dobre kmetijske prakse ter integriranega varstva tudi število škropljenj ter uporaba fitofarmaceutskih sredstev (FFS) v primerjavi z večino ostalih gojenih rastlin nekoliko večja, kar pa v zadnjih letih v javnosti povzroča oblikovanje odklonilnega odnosa do pridelovanja hmelja. Z omenjeno raziskavo smo želeli ugotoviti vpliv varstva hmelja pred boleznimi in škodljivci na ostanki FFS v tleh in podzemni vodi. V prispevku so prikazani rezultati raziskave spremljanja ostankov FFS ter težkih kovin v hmeljiščih ter podzemni vodi med leti 2006 in 2008 na vseh območjih v Sloveniji, kjer se prideluje hmelj. Iz rezultatov je mogoče razbrati, da v tleh hmeljišč praktično ni ostankov FFS, prav tako pa tudi ne v vzorcih podzemne vode na območjih, kjer se prideluje hmelj. Smo pa v hmeljiščih ugotovili relativno visoke vrednosti bakra, ki je že več kot 30 let osnovni fungicid za zatiranje hmeljeve peronospore.

Ključne besede: hmelj, fitofarmaceutska sredstva, ostanki fitofarmaceutskih sredstev, tla, podzemna voda.

ABSTRACT

THE INFLUENCE OF HOP PROTECTION FROM PESTS AND DISEASES ON THE OCCURANCE OF PLANT PROTECTION PRODUCT RESIDUES IN SOILS AND GROUNDWATER IN SLOVENIA

Hop represents one of the crops which need relatively intensive protection from pests and diseases. Consequently, it requires despite of the Good Agricultural Practice and Integrated Plant Protection Approach in comparison to other grown crops, a slightly higher number of sprayings and used Plant Protection Products (PPP), which has made the hop growing very undesirable among broader public for many years. This paper reports the results obtained from 2006 to 2008 of the investigation on the presence of PPP residues and heavy metals in hop gardens and groundwater in all Slovene regions where hop is grown. From the results it could be seen that there are only few residues of PPP in hop garden soils and no residues coming from hop growing in ground water. Nevertheless, we found quite high amounts of copper in the majority of investigated hop gardens, since copper has been the main fungicide in hop growing to control downy mildew for more than 30 years.

Key words: hop, plant protection products, residues, soil, groundwater

¹ doc. dr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ mag. kem. znan., prav tam

⁴ mag. kem. znan., prav tam

⁵ dr. kem. znan., prav tam

⁶ dr. kem. znan., prav tam

1 UVOD

Hmeljarstvo je skupaj s sadjarstvom in vinogradništvom ena od najintenzivnejših kmetijskih panog glede varstva pred boleznimi, škodljivci in pleveli. Zato so vse od šestdesetih in začetka sedemdesetih let dalje, ko so prišla v javnost prva odmevnejša opozorila o negativnih vplivih fitofarmaceutskih sredstev (FFS) na različne organizme v okolju, tudi v hmeljarstvu začeli z raziskavami spremljanja ostankov FFS v tleh in hmeljnih storžkih. Glede na način pridelovanja hmelja ter relativno ozek izbor FFS je pri pridelovanju hmelja možnost onesnaževanja tal kot tudi hmeljnih storžkov v primerjavi z enoletnimi njivskimi rastlinami precej večja. V preteklosti je bilo opravljenih več raziskav (Maček in sod. 1976, 1981, 1989, Maček, 1992), ki so obravnavale ostanke FFS vključno z bakrom v tleh ter hmeljnih storžkih. Iz tovrstnih raziskav je mogoče ugotoviti povišane vrednosti bakra, med FFS pa so bili najpogosteje ugotovljeni ostanki pripravkov DDT ter njegovih metabolitov. Ker je od zadnje tovrstne raziskave preteklo že precej časa, število aktivnih snovi pa se je medtem še zmanjšalo, kar onemogoča pridelovalcem kolobarjenje s FFS v smislu dobre kmetijske prakse, smo v raziskavi želeli preučiti trenutno stanje na področju ostankov FFS vključno z bakrom v hmeljiščih. Spremljanje ostankov FFS v tleh hmeljišč je pomembno tudi zaradi morebitnih vplivov varstva hmeljišč na ogrožanje podzemne vode, saj je znano, da velik del hmeljišč leži na lahkih peščenih tleh na ravninskih območjih ob rekah. Namen raziskave pa je bil ob tem tudi ugotavljanje vsebnosti bakra v hmeljiščih kot posledica njegove dolgoletne uporabe ter primerjava rezultatov z izsledki raziskav iz preteklosti. Znano je namreč, da je baker zelo obstojen in ima lahko njegovo prekomerno kopičenje neugodne vplive na življenje v tleh. Precej ozek izbor dovoljenih FFS pri pridelovanju hmelja v zadnjih letih je lahko tudi vzrok za morebitno uporabo nedovoljenih FFS. Zato smo želeli v okviru raziskave ugotoviti spoštovanje zakonodaje s področja uporabe FFS v hmeljarstvu in ne nazadnje obvestiti javnost o dejanskem stanju onesnaženosti tal v slovenskih hmeljiščih, saj v javnosti še vedno velja prepričanje, da so hmeljišča med najbolj onesnaženimi kmetijskimi zemljišči.

2 MATERIALI IN METODE

Osnovo za raziskavo je predstavljala raziskava vsebnosti hranil v tleh v Sloveniji, ki jo že 4 leta opravljamo za podjetje Ina – Petrokemija d.o.o., Kutina. V okviru omenjene raziskave smo v letu 2006 prvič analizirali 15 naključno izbranih vzorcev tal iz nabora 2000 vzorcev po vsej Sloveniji, izmed katerih je bilo 75 vzorcev iz hmeljišč. Omenjenih 15 vzorcev smo analizirali na vsebnost ostankov FFS. V letu 2007 smo analizirali vseh 84 vzorcev tal iz hmeljišč iz nabora 2000 vzorcev po vsej Sloveniji. V letu 2007 smo ob analizah na ostanke FFS ugotavljali tudi vsebnost težkih kovin, bakra in kadmija. Podobno kot v letu 2007 smo tudi v letu 2008 analizirali vseh 73 vzorcev tal hmeljišč iz nabora 2000 vzorcev po vsej Sloveniji na ostanke FFS, vključno s težkimi kovinami, bakrom in kadmijem. Vzorce zemlje iz hmeljišč smo v vseh 3 letih jemali iz vseh hmeljskih območij v Sloveniji, pri čemer so sodelovali kmetijski svetovalci iz Kmetijsko gozdarskih zavodov, s katerimi sodelujemo v okviru omenjene raziskave za Ino-Petrokemijo.

Za laboratorijske analize ostankov FFS v vzorcih tal smo uporabili tri metode:

- multirezidualna metoda 1 (GC/MS): posušene vzorce smo ekstrahirali z mešanico acetona, petroletra in diklorometana in analizirali s plinsko kromatografijo z masno selektivnim detektorjem,
- multirezidualna metoda 2 (LC/MS/MS): posušene vzorce smo ekstrahirali z mešanico acetona, petroletra in diklorometana in analizirali s tekočinsko kromatografijo z masno selektivnim detektorjem,
- metoda za določitev ostankov ditiokarbamatov (GC/MS): vzorce smo segrevali v dvofaznem sistemu izo-oktan/kositrov(II)klorid v razredčeni klorovodikovi kislini, nastali

ogljikov disulfid pa raztopili v organski fazi in analizirali s plinsko kromatografijo z masno selektivnim detektorjem.

V raziskavo smo vključili vse aktivne snovi, ki so dovoljene pri pridelavi hmelja kot tudi veliko večino ostalih aktivnih snovi, ki jih kmetijski pridelovalci uporabljajo pri pridelavi ostalih gojenih rastlin oziroma so jih uporabljali v preteklosti. Med težkimi kovinami smo v raziskavo vključili baker, ki ga kmetijski pridelovalci uporabljajo kot FFS za zatiranje bolezni, hmeljeve peronospore ter kadmij, ki ga v hmeljišča vnašamo večinoma skupaj z mineralnimi gnojili.

Vsebnost bakra v tleh smo določevali s plamensko tehniko na atomskem absorpcijskem spektrometru Perkin Elmer Aanalyst 800, kadmija pa z elektrotermično tehniko na atomskem absorpcijskem spektrometru Perkin Elmer Aanalyst 600 (ISO 11466 - Soil quality - Extraction of trace elements soluble in aqua regia, ISO 11047 - Soil quality - Determination of cadmium, chromium, cobalt, copper, lead, manganese, nickel and zinc in aqua regia extracts of soil - Flame and electrothermal atomic absorption spectrometric methods).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V letu 2006 v nobenem od 15 naključno izbranih vzorcev vzeti iz nabora vzorcev iz hmeljišč v različnih pridelovalnih območjih v Sloveniji nismo ugotovili nobene izmed preučevanih aktivnih snovi.

V preglednicah 1 in 2 so prikazani rezultati analiz ostankov FFS v vzorcih tal iz hmeljišč v Sloveniji v letih 2007 in 2008.

V letu 2007 smo ugotovili ostanke FFS v zgoj 6 od 84 vzorcev tal, to je pri 7 % vzorcev. Od teh je en vzorec vseboval ostanke DDT in sicer le nekoliko nad mejo detekcije, kar je posledica uporabe iz precej oddaljene preteklosti. Ob tem smo pri 2 vzorcih ugotovili ostanke akaricidov, s katerimi smo zatirali hmeljevo pršico, pri 3 vzorcih pa smo ugotovili ostanke herbicidov, ki pa v hmeljiščih že vrsto let nimajo dovoljenja za uporabo.

Preglednica 1: rezultati analize ostankov FFS v 84 vzorcev tal v hmeljiščih v Sloveniji v letu 2007

	Analizna metoda in vrsta ugotovljenih aktivnih snovi				
	GC-MS				LC-MS/MS
	brompropilat	DDT	pendimetalin	terbutilazin	fenpiroksimat
LoD (mg/kg)	0,01	0,05	0,01	0,01	0,03
Oznaka vzorca	koncentracija (mg/kg)				
07-4689-zemlja	-	0,06	-	-	-
07-5123-zemlja	-	-	-	-	0,07
07-5124-zemlja	0,01	-	-	-	-
07-5158-zemlja	-	-	0,01	-	-
07-5191-zemlja	-	-	-	0,01	-
07-6610-zemlja	-	-	0,02	-	-

V letu 2008 smo za razliko od leta 2007 ugotovili ostanke FFS v kar 28,8 % (pregl. 3) vzorcev oziroma v 21 od 73 talnih vzorcev, pri čemer smo v kar 13 vzorcih (17,8 %) ugotovili ostanke DDT in v zgoj 10 vzorcih ostanke drugih FFS. Med vzorci, ki so vsebovali DDT, jih je 8 vsebovalo DDT blizu meje detekcije, medtem ko je 5 vzorcev še vedno vsebovalo nepričakovano visoke vrednosti DDT glede na tovrstne raziskave iz preteklosti (Maček, 1992, Maček in sod., 1989, Maček in Krašnja, 1981). Vendar pa smo zgoj v enem primeru ugotovili vrednost, ki je presejala mejno vrednost, ki za DDT znaša 0,1 mg/kg suhe snovi. (Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh, Ur. l. RS, št. 68/1996). Med ostalimi FFS smo najpogosteje ugotovili ostanke akaricidov, s katerimi so hmeljarji zatirali hmeljevo pršico. Ker je hmeljeva pršica v času pred obiranjem hmelja najpomembnejši škodljiv organizem, hkrati pa imajo akaricidi večinoma dolgo čakalno dobo - karenco, 28 dni in več, hmeljarji obiranje hmelja pogosto prilagajajo prav

karenci. Pri 3 vzorcih pa smo tako kot v letu 2007 ugotovili ostanke herbicidov, ki jih v hmeljišču ne bi smeli uporabljati. Ker smo herbicide ugotovili v hmeljiščih, ki so starejša od treh let, le-ti prav gotovo niso posledica njihove uporabe pri pridelovanju koruze, čemur so sicer namenjene aktivne snovi, ki smo jih ugotovili v analiziranih vzorcih.

Preglednica 2: rezultati analize ostankov FFS v 73 vzorcev tal v hmeljiščih v Sloveniji v letu 2008

	Analizna metoda in vrsta ugotovljenih aktivnih snovi				
	GC-MS			LC-MS/MS	
	DDT	terbutilazin	metolaklor	heksitiazoks	fenpiroksimat
LoD (mg/kg)	0,005	0,001	0,001	0,001	0,001
Oznaka vzorca	koncentracija (mg/kg)				
08-4865-zemlja	-	-	-	0,002	-
08-4867-zemlja	-	-	-	-	0,002
08-4868-zemlja	0,007	-	-	-	-
08-4869-zemlja	0,131	-	-	-	-
08-4875-zemlja	0,020	0,003	0,008	-	-
08-4901-zemlja	-	0,002	0,001	-	-
08-4902-zemlja	-	-	-	-	0,001
08-4905-zemlja	-	-	-	0,003	-
08-4906-zemlja	0,007	-	-	0,004	-
08-4911-zemlja	0,006	-	-	-	-
08-4923-zemlja	0,006	-	-	-	-
08-4927-zemlja	-	-	-	0,001	-
08-4943-zemlja	0,078	-	-	-	-
08-4944-zemlja	0,044	-	-	-	-
08-4946-zemlja	-	-	-	0,001	-
08-4950-zemlja	-	0,002	-	-	-
08-4967-zemlja	0,007	-	-	-	-
08-4969-zemlja	0,006	-	-	-	-
08-4970-zemlja	0,005	-	-	-	-
08-5036-zemlja	0,014	-	-	-	-
08-5046-zemlja	0,023	-	-	-	-

Preglednica 3: rezultati analize ostankov FFS v vzorcih tal v hmeljiščih v Sloveniji v letih med 2006 in 2008

Leto vzorčenja	Skupno število vzorcev	Št. vzorcev pod LOD	% vzorcev pod LOD	Št. vz. nad ali enako LOD	% vz. nad ali enako LOD
2006	15	15	100	0	100
2007	84	78	92,9	6	7,1
2008	73	52	71,2	21	28,8

V preglednicah 4 in 5 so prikazani rezultati analiz ostankov bakra in kadmija v vzorcih tal iz hmeljišč v Sloveniji v letih 2007 in 2008.

Povprečna vrednost bakra v vzorcih v letu 2007 kot tudi 2008 je bila 77,1 mg/kg, kar je več kot znaša mejna vrednost predpisana v Uredbi o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh (Ur.l. RS, št. 68/1996), ki je 60 mg/kg suhe snovi. Da se povprečna vrednost bakra v tleh v hmeljiščih povečuje, je razvidno tudi iz raziskave iz leta 1975 (Maček in sod., 1976), kjer je bila povprečna vrednost bakra v hmeljiščih v Savinjski dolini 30,3 mg/kg, medtem ko je bila ta vrednost na ostalih hmeljskih območjih zunaj Savinjske doline precej manjša, 21,4 mg/kg suhe snovi. Na kopičenje bakra v tleh pa nas opozarja kar 14 vzorcev v letu 2007 in 17 vzorcev v letu 2008, kjer smo ugotovili vsebnosti bakra, ki so bile višje tudi od opozorilne vrednosti, ki znaša 100 mg/kg tal. V raziskavi iz leta

1975 so bili le 4 vzorci v Savinjski dolini, ki so vsebovali 60 ali več mg bakra/kg tal in samo en vzorec iz območij izven Savinjske doline, medtem ko je zgolj en vzorec v letu 1975 presegal opozorilno vrednost.

Preglednica 4: rezultati analize ostankov bakra v vzorcih tal v hmeljiščih v Sloveniji v letih 2007 in 2008 v primerjavi z letom 1975

Leto vzorčenja	Skupno število vzorcev	Povprečna vrednost v mg/kg	Najvišja vrednost v mg/kg	Najmanjša vrednost v mg/kg	Skupno število vzorcev nad mejno in opozorilno vrednostjo
1975 – savinjska	51	30,3	80,0	5,6	4/0
1975 – ostala obm.	28	21,4	108	4,5	1/1
2007	84	77,1	177,0	24,6	62*/14"
2008	73	77,1	139,8	20,6	52/17

* Mejna vrednost za baker po Uredbi o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh (Ur.l. RS, št. 68/1996) je 60 mg/kg suhe snovi;

" Opozorilna vrednost po Uredbi je 100 mg/kg suhe snovi;

Za razliko od bakra smo pri ugotavljanju kadmija v slovenskih hmeljiščih ugotovili, da so vrednosti sicer ravno tako visoke glede na Uredbo o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh, vendar pa je delež vzorcev, ki presegajo mejno vrednost 1 mg/kg suhe snovi, precej manjši (manj kot 5 % v letu 2007 ter 34 % v letu 2008), prav tako pa smo zgolj v enem primeru v dveletni raziskavi ugotovili vrednost, ki je presegala opozorilno vrednost, 2 mg kadmija/kg suhe snovi (pregl. 5).

Preglednica 5: rezultati analize ostankov kadmija v vzorcih tal v hmeljiščih v Sloveniji v letih 2007 in 2008

Leto vzorčenja	Skupno število vzorcev	Povprečna vrednost v mg/kg	Najvišja vrednost v mg/kg	Najmanjša vrednost v mg/kg	Skupno število vzorcev nad mejno in opozorilno vrednostjo
2007	84	0,73	2,71	0,20	4*/1"
2008	73	0,86	1,99	0,19	25/0

* Mejna vrednost za kadmij po Uredbi o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh (Ur.l. RS, št. 68/1996) je 1 mg/kg suhe snovi;

" Opozorilna vrednost po Uredbi je 2 mg/kg suhe snovi;

4 SKLEPI

Z rezultati naše študije smo ugotovili, da se poraba fitofarmaceutskih sredstev v hmeljiščih kljub njihovi večkratni uporabi ne odraža v kopičenju ostankov v tleh. Pri tem je izjema DDT, ki ga še vedno lahko ugotovimo po 40 letih njegove zadnje uporabe, pri čemer lahko ugotovimo, da se tudi v tem primeru vrednosti počasi, vendar opazno nižajo. Ostale aktivne snovi, ki smo jih ugotovili v tleh, so bile v zelo nizkih koncentracijah in ne predstavljajo tveganja za dolgotrajnejše onesnaževanje tal in še manj za onesnaževanje podzemne vode. To lahko ugotovimo tudi iz uradnega monitoringa kakovosti podzemne vode v Sloveniji, saj med ugotovljenimi ostanki FFS v zadnjih desetih letih ni aktivnih snovi, ki jih uporabljajo pri pridelovanju hmelja.

Koncentracija kadmija v hmeljarskih tleh se glede na dobljene rezultate sicer ne razlikuje od drugih kmetijskih zemljišč, vendar pa so vrednosti relativno visoke in predvsem v letu 2008 v več kot 30 % presegajo mejno vrednost. Uporaba bakra se zaradi večkratne letne uporabe

tekom let odraža v precej visokih vsebnostih v tleh, ki kažejo jasen trend naraščanja. Zaradi kopičenja bakra v tleh bo potrebno predvsem v starejših hmeljiščih spremeniti tehnologijo varstva hmelja proti boleznim, saj bo v prihodnje baker v številnih hmeljiščih že lahko negativno vplival na življenje v tleh in s tem na rodovitnost tal kot tudi pridelavo hmelja. V prihodnje bi bilo smiselno raziskavo razširiti tudi na spremljanje ostankov FFS v storžkih, s čimer bi lahko tehnologijo varstva hmelja še učinkoviteje prilagodili tako zagotavljanju neoporečnega hmelja kot tudi preprečevanju negativnih vplivov na okolje. Pri sedanji tehniki pridelovanja hmelja predstavlja tveganje za podzemno vodo praviloma le pridelovanje hmelja na lahkih peščenih tleh, vendar tudi v tem primeru predvsem uporaba nedovoljenih herbicidov, ki jih posamezni hmeljarji še vedno uporabljajo za zatiranje plevelov v hmeljiščih.

5 LITERATURA

- ISO 11466 - Soil quality - Extraction of trace elements soluble in aqua regia.
- ISO 11047 - Soil quality – Determination of cadmium, chromium, cobalt, copper, lead, manganese, nickel and zinc in aqua regia extracts of soil – Flame and electrothermal atomic absorption spectrometric methods.
- Maček J., Cencelj J., Dorer M. 1976. Kontaminacija zemlje iz hmeljišč ter storžkov hmelja z rezidui bakra, lindana, diklordifeniltrikloretana in organskih fofornih estrov v Sloveniji.- Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, 28, 1976, s. 61-72.
- Maček J in Krašnja A. 1981. Kontaminacija zemlje iz hmeljišč z ostanki kloriranih ogljikovodikov ter storžkov hmelja z ostanki bakra in ditiokarbamatov v Sloveniji.- Zbornik Biotehniške fakultete Univerze Edvarda Kardelja v Ljubljani, 73, 1981, s. 313-326.
- Maček J., Repe J., Gartner A. 1989. Kontaminacija tal iz hmeljišč z ostanki kloriranih ogljikovodikov ter hmeljevih storžkov z ostanki bakra v Sloveniji.- Zbornik Biotehniške fakultete Univerze Edvarda Kardelja v Ljubljani, 53, 1989, s. 199-204.
- Maček J. 1992. Kontaminacija tal in rastlinskih pridelkov z ostanki fitofarmaceutskih sredstev v Sloveniji.- Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, 59, 1992, s. 229-240.
- Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh.- Uradni list RS, št. 68/1996.

REZULTATI PREIZKUŠANJ NOVEGA AKARICIDA MILBEKNOCK NA JABLANAH IN NA HMELJU

Franc JURŠA¹, Barbara FAŠNIK²

^{1,2}Agroruše d.o.o., Ruše

IZVLEČEK

Problematiki varstva jablan pred rdečo sadno pršico (*Panonychus ulmi*) in varstva hmelja pred navadno pršico (*Tetranychus urticae*), sta v Sloveniji stalni. V prispevku so prikazani rezultati preizkušanj novega akaricida Milbeknock (a. s. milbemektin) v letih 2006-2008, v primerjavi s starejšima akaricidoma Nissorun 10 WP in Ortus 5 SC, ter novejšim Kanemitom 15 SC. Delovanje Milbeknocka proti pršicam je bilo tako pri jablanah kot pri hmelju zelo dobro. Milbeknock ima v Sloveniji registracijo od spomladi 2008. Za akaricid Kanemite 15 SC se registracija še pričakuje.

Ključne besede: Kanemite 15 SC, Milbeknock, Nissorun 10 WP, poskusi, rezultati

ABSTRACT

RESULTS OF EXPERIMENTS WITH NEW AKARICIDE MILBEKNOCK ON APPLES AND IN HOPES

Problems with red spider mite (*Panonychus ulmi*) in apples and twospotted spider mite (*Tetranychus urticae*) in hopes, are significant for Slovenia. In the article are results of testing new akaricide Milbeknock (active ingredient milbemectin) in years 2006-2008 in comparison with older akaricides Nissorun 10 WP, Ortus 5 SC and the new one, Kanemite 15 SC. Efficiency of Milbeknock against mites was very good in apples and hopes. The registration of Milbeknock in Slovenia started in spring 2008. Registration of Kanemite 15 SC is in the process of confirmation.

Key words: experiments, Kanemite 15 SC, Milbeknock, Nissorun 10 WP, results

1 UVOD

Podjetje Agroruše d.o.o. zastopa v Sloveniji več proizvajalcev fitofarmaceutskih sredstev iz Japonske. Tako smo na slovensko tržišče v zadnjih desetih letih pripeljali več akaricidov: Orus 5 SC (fenpiroksimat), Nissorun 10 WP (heksitiazoks) in Milbeknock (milbemektin). V fazi preizkušanja in v pričakovanju registracije je akaricid Kanemite 15 SC (acekvinocil).

Problematika varstva rastlin pred pršicami raznih vrst je stalna. Posebej v zadnjih, toplejših letih je njihovo zatiranje še bolj problematično.

Delovanje akaricidov je pogojeno s številnimi dejavniki. Njihovo učinkovitost, tako tistih, ki so že dalj časa na tržišču in novejših, spremljamo v poskusih na KGZ Maribor na jablanah ter na IHPS Žalec na hmelju. Poskuse izvajajo strokovne skupine za varstvo rastlin na omenjenih institucijah. V preizkušanju so bili v zadnjih treh letih zajeti večinoma prej omenjeni akaricidi in tudi akaricidi drugih ponudnikov FFS. Prikazujemo le rezultate

¹ uni. dipl. inž. agr., Tovarniška cesta 27, SI-2342 Ruše

² uni. dipl. inž. agr., prav tam

akaricidov, ki jih prodaja podjetje Agroruše d.o.o., za kar imamo pooblastilo naših partnerjev, ki jih zastopamo. Učinkovitost akaricidov je povzeta po poročilih o preizkušanju.

2 MATERIALI IN METODE

Na KGZ Maribor zadnja tri leta izvajajo poskuse z akaricidi v nasadih jablan v okolici Maribora (Pekre 2006, Sadjarski center Gačnik 2007 in 2008). Lokacija poskusa in sorte se izberejo glede na število zimskih jajčec na dolžinski meter vejic in glede na dejanski pojav rdeče sadne pršice, tako da se zagotovi sorazmerno ustrezen napad rdeče sadne pršice na kontrolni parceli oz. na neškropljenih drevesih. Škropljenje se izvaja s traktorskim nošenim pršilnikom ob uporabi 800-1000 L vode/ha. Datum škropljenja se določi glede na dejanski pojav rdeče sadne pršice oz. ko je presežen prag škodljivosti. Datumi opazovanja oz. štetja gibljivih stadijev pršic se prilagajajo glede na datum škropljenja oz. na ustrezen porast števila pršic na škropljeni parceli in glede na pojav pršic v kontrolni parceli. Tako so razmiki med opazovanji po letih različni (kot je vidno iz preglednic). Ocenjevanje se izvede na osnovi štetja gibljivih stadijev pršic na listih, pobranih z dreves, na škropljenih parcelah in v kontroli. Število listov je 25/parcelo, skupaj 100 listov (4 ponovitve štetja). Učinkovitosti delovanja posameznih akaricidov je preračunana po Abbottu in se izrazi v %.

Na IHPS Žalec izvajajo poskuse na parcelah nasada hmelja v Žalcu. Čas aplikacije oz. škropljenje je izbran glede na pojav navadne pršice na listih hmelja oz. ko so pragi škodljivosti preseženi (ponavadi v mesecu juniju). Škropljenje izvajajo z vlečnim traktorskim pršilnikom, ob uporabi 1000 L vode/ha. Ocenjujejo se gibljivi stadiji pršic na listih hmelja, pobranih iz treh višin, 7., 14., 21., 28. in 35. dan po škropljenju. V preglednicah so zajeti podatki o številu gibljivih stadijev pršic in izračunana učinkovitost akaricidov po 14 in 28 dneh po uporabi akaricida. Vzorci listov za ocenjevanje se vzamejo iz sredine parcele (po deset listov iz spodnjega, deset listov iz srednjega in deset listov iz zgornjega dela rastline). Učinkovitost delovanja akaricidov se na podlagi štetja gibljivih stadijev pršic izračuna po Abbottu oz. Henderson-Tilton-u in se izrazi v %.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V letu 2006 so bili poskusi izvajani na sortah jonagold in idared v Pekrah. Datum opravljenega škropljenja je bil 26. 4. Preseneča izjemno nizka populacija pršic v kontroli, kljub velikemu številu zimskih jajčec. Maj in junij sta bila zelo hladna meseca, kar ni ugodno za razvoj pršic. Julij in avgust sta bila nadpovprečno topla. Pri 3. in 4. štetju pa se je populacija pršic v kontroli močno povečala. Učinkovitost prvič preizkušene akaricida Milbeknock je bila tudi pri tako pozni kontroli izjemoma visoka.

Preglednica 1: rezultati štetja gibljivih stadijev rdeče sadne pršice na listih jablan sort »jonagold« in »idared« v letu 2006. Učinkovitost delovanja izračunana po Abbottu v %.

Akaricid	Odmerek/ ha	Datum škropljenja	Število pršic na 100 listih na datum				Učinkovitost v %			
			30. 5.	7. 7.	7. 8.	5. 9.	30. 5.	7. 7.	7. 8.	5. 9.
Nissorun 10 WP	1 kg	26. 4.	9	4	124	146	-	-	78,3	28,3
Milbeknock	1 l	26. 4.	4	0	4	11	-	-	99,3	98,1
Neškropljeno	-	-	76	30	573	580	-	-	-	-

V letu 2007 je bilo prvo škropljenje proti rdeči sadni pršici na sorti elstar opravljeno dne 18.4. Po prvi kontroli učinkovitost sredstva Nissorun 10 WP ni bila zadovoljiva, zato so aplikacijo ponovili 17. 5. Razvoj pršic je bil na kontrolni parceli zelo hiter (842 pršic/100 listov), nato pa se je hitro zmanjšal, verjetno zaradi pojava plenilskih pršic. Učinkovitost Milbeknocka je bila

zelo visoka tudi v primerjavi z drugimi uporabljenimi akaricidi. V letu 2008 je bil zraven Milbeknocka, ki je v tem letu že dobil dovoljenje za uporabo v praksi, preizkušen tudi nov akaricid Kanemite 15 SC. Na kontroli oz. na neškropljeni parceli se je število gibljivih stadijev pršic močno povečalo. Pri prvem štetju jih je bilo celo 1832, pri drugem 3. 6. pa celo 1968. Pri tretjem štetju (kontroli), dne 3. 7., pa je število pršic verjetno zaradi pomanjkanja hrane v kontroli močno padlo. Učinkovitost Milbeknocka je bila tako kot v prvih dveh letih zelo visoka. Kanemite 15 SC pri štetju 3. 6. ni pokazal pričakovanih rezultatov in je bilo število gibljivih stadijev pršic nad pragom škodljivosti. Vsekakor ne gre za tako perzistenten pripravek, kot je Milbeknock, vendar bo Kanemite 15 SC verjetno dober oz. ustrezen akaricid za uporabo kot korektor v poletnih mesecih.

Preglednica 2: rezultati štetja gibljivih stadijev rdeče sadne pršice na listih jablan sorte »idared« v letu 2007. Učinkovitost delovanja izračunana po Abottu v %.

Akaricid	Odmerek/ha	Datum škropljenja	Število pršic na 100 listih na datum		Učinkovitost v %	
			7. 5.	29. 5.	7. 5.	29. 5.
Milbeknock	1 l	18. 4.	13	5	98,45	97,02
Nissorun 10 WP	1 kg	18. 4. in 17. 5.	248	82	70,54	51,19
Neškropljeno	-	-	-	-	-	-

Preglednica 3: rezultati štetja gibljivih stadijev rdeče sadne pršice na listih jablan sorte »elstar« v letu 2008. Učinkovitost delovanja izračunana po Abottu v %.

Akaricid	Odmerek/ha	Datum škropljenja	Število pršica na 100 listih na datum			Učinkovitost v %		
			30. 4.	3. 6.	3. 7.	7. 5.	3. 6.	3. 7.
Kanemite 15 SC	1,25 l	7. 5. in 10. 6.	361	716	14	80,3	63,3	97,3
Milbeknock	1 l	10. 6.	-	6	8	-	99,7	98,5
Neškropljeno	-	-	1832	1968	524	-	-	-

Preglednica 4: povprečno število gibljivih stadijev navadne pršice na različnih višinah hmelja, 14. dan po škropljenju (12.7.2006) in učinkovitost po Henderson Tilton-u v %. Rastni stadij hmelja po BBCH je bil 64.

Akaricid	Odmerek/ha	Št. gibljivih stadijev pršice na listih hmelja				Učinkovitost Henderson-Tilton (%)
		Spodnji del rastline	Srednji del rastline	Zgornji del rastline	Povprečje	
Neškropljeno	-	11,5	36,2	29,9	25,9	-
Nissorun 10 WP	1 kg	0,4	3,4	5,5	3,1	96,0
Milbeknock	1 l	0,15	1,75	2,75	1,6	97,6
Ortus 5 SC	2 l	0,9	3,0	5,4	3,1	97,8
Milbeknock	1,25 l	0,05	0,85	3,35	1,4	97,6

Preizkušanje akaricidov v hmelju v letu 2006 kaže naslednje. Učinkovitost Ortus-a 5 SC je glede na večletno uporabo pričakovana. Pripravek Nissorun 10 WP kaže zadovoljivo delovanje. Novi akaricid Milbeknock kaže zelo dobro delovanje tudi v odmerku 1 L/ha in je primerljiv z drugimi sorodnimi akaricidi oz. je boljši od njih. Preizkušanje akaricidov v letu 2007 kaže na nekoliko slabše delovanje Nissorun-a 10 WP v prvih dveh tednih. Po štirih tednih je delovanje zadovoljivo. Milbeknock smo v tem letu preizkušali le v odmerku 1 L/ha. Rezultati kažejo na dobro začetno in tudi odlično dolgoročno delovanje. V letu 2008 je bil

poleg registriranega in v praksi uporabljenega Nissorun-a 10 WP preizkušen še nov pripravek Kanemite 15 SC.

Preglednica 5: povprečno število gibljivih stadijev navadne pršice na različnih višinah hmelja, 28.dan po škropljenju (26.7.2006) in učinkovitost po Henderson Tilton-u v %. Rastni stadij hmelja po BBCH je bil 68.

Akaricid	Odmerek/ha	Št. gibljivih stadijev pršice na listih hmelja				Učinkovitost Henderson-Tilton (%)
		Spodnji del rastline	Srednji del rastline	Zgornji del rastline	Povprečje	
Neškropljeno	-	58,2	69,3	75	67,5	-
Nissorun 10 WP	1 kg	1,6	1,4	4,4	2,5	98,8
Milbeknock	1 l	5,1	4,2	9,3	6,2	96,5
Ortus 5 SC	2 l	18,7	19,1	61,6	33,1	91,2
Milbeknock	1,25 l	1,2	1,5	3,3	2,0	98,7

Preglednica 6: povprečno število gibljivih stadijev navadne pršice na različnih višinah hmelja, 14.dan po škropljenju (04.7.2007) in učinkovitost po Henderson Tilton-u v %. Rastni stadij hmelja po BBCH je bil 66.

Akaricid	Odmerek/ha	Št. gibljivih stadijev pršice na listih hmelja				Učinkovitost (%)
		Spodnji del rastline	Srednji del rastline	Zgornji del rastline	Povprečje	
Neškropljeno	-	10,7	13,8	30,10	18,20	-
Milbeknock	1 l	0,10	0,23	0,57	0,30	98,59
Nissorun 10 WP	1 kg	0,10	0,90	6,50	2,50	79,92

Preglednica 7: povprečno število gibljivih stadijev navadne pršice na različnih višinah hmelja, 28.dan po škropljenju (18. 7. 2007) in učinkovitost po Henderson Tilton-u v %. Rastni stadij hmelja po BBCH je bil 69.

Akaricid	Odmerek/ha	Št. gibljivih stadijev pršice na listih hmelja				Učinkovitost (%)
		Spodnji del rastline	Srednji del rastline	Zgornji del rastline	Povprečje	
Neškropljeno	-	22,5	279,70	404,20	235,47	-
Milbeknock	1 l	1,23	1,17	4,83	2,41	99,12
Nissorun 10 WP	1 kg	3,20	11,73	15,27	10,7	93,75

Preglednica 8: povprečno število gibljivih stadijev navadne pršice na različnih višinah hmelja, 14.dan po škropljenju (16. 7. 2008) in učinkovitost po Abottu v %. Rastni stadij hmelja po BBCH je bil 65.

Akaricid	Odmerek/ha	Št. gibljivih stadijev pršice na listih hmelja				Učinkovitost (%)
		Spodnji del rastline	Srednji del rastline	Zgornji del rastline	Povprečje	
Neškropljeno	-	2,6	2,2	2,0	2,27	-
Kanemite 15 SC	1,25 l	0,03	0,0	0,0	0,01	99,52
Nissorun 10 WP	1 kg	0,3	0,43	0,23	0,32	85,99

Milbeknock še v tem letu ni imel registracije za hmelj. Kanemite 15 SC je imel dobro začetno delovanje, kot kaže učinkovitost po 14 dneh, le-ta pa nekoliko pade po štirih tednih. Pri

Nissorun-u 10 WP pa gre za potrditev rezultatov preizkušanja iz prejšnjih let in kaže na slabše začetno in zadovoljivo delovanje po štirih tednih.

Preglednica 9: povprečno število gibljivih stadijev navadne pršice na različnih višinah hmelja, 28.dan po škropljenju (30. 7. 2008) in učinkovitost po Abottu v %. Rastni stadij hmelja po BBCH je bil 71.

Akaricid	Odmerek/ha	Št. gibljivih stadijev pršice na listih hmelja				Učinkovitost (%)
		Spodnji del rastline	Srednji del rastline	Zgornji del rastline	Povprečje	
Neškropljeno	-	6,6	5,07	4,13	5,27	-
Kanemite 15 SC	1,25 l	0,23	0,03	0,03	0,1	98,10
Nissorun 10 WP	1 kg	1,3	0,63	0,67	0,87	83,54

4 SKLEPI

Poskusi na jablanah v zadnjih treh letih na KGZ Maribor z različnimi akaricidi, kažejo na različne učinkovitosti, kar je rezultat različnih razmer v letih preizkušanj. Vsekakor pa lahko trdimo, da je Milbeknock ob pravočasni uporabi odličen akaricid z dolgoročno oz. perzistentnim delovanjem. Nissorun 10 WP kaže v sadjarstvu že nekoliko slabše delovanje, vendar je lahko v praksi dobrodošel predvsem za korekcijska škropljenja v poletnem času, tako da ob prepogosti uporabi Milbeknock-a ne bi prišlo do prehitre rezistence, kar se dogodi pri večini akaricidov. Vsekakor pa bo dobrodošla tudi morebitna registracija in uporaba novejšega akaricida Kanemite 15 SC, ki ima predvsem dobro kratkoročno delovanje.

Poskusi na IHPS Žalec kažejo na slabšo učinkovitost Ortus-a 5 SC, kar je po dolgoletni uporabi pričakovano. Delovanje Nissorun-a 10 WP je še zanesljivo, vendar na nižjem nivoju. Vsekakor pa bosta v praksi lahko zelo zanimiva tudi Milbeknock in Kanemite 15 SC, ob morebitni registraciji za uporabo v hmelju.

5 ZAHVALA

Zahvaljujemo se tako KGZ Maribor in IHPS Žalec, za korektno izvedbo poskusov z akaricidi v zadnjih treh letih. Posebej se zahvaljujemo vodjem poskusov mag. Gustavu Matisu in mag. Jožetu Miklavcu na KGZ Maribor. Zahvala gre tudi dr. Magdi Rak Cizej na IHPS Žalec.

6 LITERATURA

Poročila poskusov KGZ Maribor in IHPS Žalec v letih 2006-2008.
Dokumentacija Agroruše.

BOLJŠI PREDPISI NA PODROČJU VARSTVA RASTLIN

Vlasta KNAPIČ¹, Katarina GROZNIK², Anita BENKO BELOGLAVEC³, Simona MAVSAR⁴, Mirjam ČELAN⁵

^{1,2,4,5}Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, Fitosanitarna uprava RS, Ljubljana

²mag, univ. dipl. inž. agr., prav tam

³Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, Inšpektorat RS za kmetijstvo, gozdarstvo in hrano, Ljubljana

IZVLEČEK

Usmeritev v izboljšanje predpisov vključuje elemente kot so: ocena učinkov, posvetovanje z zainteresiranimi strankami, zmanjševanje administrativnih ovir in poenostavitev zakonodaje. Delo na izboljšanju predpisov se je začelo na podlagi Lizbonske strategije (2000) sprejete v okviru Sveta Evropske unije (EU), ki je postavila kot prioriteto vzpostavitev poslovanju prijaznega okolja z zmanjševanjem administrativnih bremen v obstoječih predpisih in s preprečevanjem nastajanja novih bremen. Jasnejša, enostavnejša in bolj razumljiva zakonodaja je ključna za učinkovitejše poslovanje in bolj zadovoljne stranke oziroma državljanke. Ena od prioritet slovenskega predsedovanja Svetu EU v letu 2008 je bila spodbujanje stalnega in sistematičnega zbiranja novih predlogov za poenostavitve predpisov na EU ravni. V prispevku obravnavamo dva primera s področja varstva rastlin. Prvi je razprava 27 držav članic EU o rezultatih vprašalnika o potencialnih vplivih registracije in drugih postopkov za zagotavljanje fitosanitarne varnosti izvoznih pošiljk. Drugi primer je začetek postopka za izvedbo celovitega pregleda režima zdravstvenega varstva rastlin v EU, ki ga opredeljuje direktiva Sveta 2000/29/EC. Pregled se bo nadaljeval do leta 2015, ko pričakujemo obravnavo revidiranega predpisa. Do takrat je potrebno spodbujati pridobivanje čim več predlogov za poenostavitve sedanje predpisane ureditve področja varstva rastlin kot tudi predpisov, povezanih z varstvom osebnih podatkov, ter drugih administrativnih bremen z vključevanjem zainteresiranih skupin v javnem in zasebnem sektorju tako na nacionalni kot EU ravni.

Ključne besede: zdravje rastlin, boljši predpisi, zakonodaja

ABSTRACT

BETTER REGULATION IN THE PLANT HEALTH SECTOR

Better regulation principles relate to the following elements: Impact assessments, Consultation of interested parties, Reduction of administrative burdens and Simplification of legislation. Better regulation activities started on the basis of the Lisbon strategy (2000) of the Council of the European Union (EU), which set as a priority a business friendly environment enhanced by reducing administrative burdens in the existing regulations and preventing imposing new ones. A clearer, simpler and more understandable regulation is the key for a more effective business and more satisfied customers/citizens. One of the priorities

¹ univ. dipl. inž. agr., Einspielerjeva 6, SI-1000 Ljubljana

² mag. agr. znan., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., Parmova 33, SI-1000 Ljubljana

⁴ mag. agr. znan., Einspielerjeva 6, SI-1000 Ljubljana

⁵ univ. dipl. inž. agr., prav tam

of the Slovenian Presidency to the EU in 2008 was to stimulate a permanent and systematic collecting of new proposals for regulation simplification at the EU level. In the paper two examples are given which are related to the plant health field: The first one is discussion of the outcome of questionnaires on potential implications of registration and other procedures for maintaining phytosanitary security of consignments for export, which was held by 27 EU Member States as an impact assessment of potential implications of registration of exporters and other procedures aiming at phytosanitary security after certification. The second example is start of the procedure for undertaking a complete review of the EU Plant Health regime set by the Council directive 2000/29/EC, which will continue until 2015, when new revised plant health legislation is expected. Meanwhile activities should be stimulated to obtain as many proposals as possible for a simplification of the existing plant health legislation and the legislation connected to personal data protection and other administrative burdens, by including all interested parties in a public and private sector at the national and EU level.

Key words: plant health, better regulation, legislation

1 UVOD

Voditelji držav članic Evropske unije (EU), so marca 2000 sprejeli Lizbonsko strategijo, ki predvideva, da bi do leta 2010 EU postala najbolj dinamična in konkurenčna, na znanju temelječa ekonomija na svetu. Za doseg zadane cilja obstaja vrsta pobud, ki so namenjene izboljšanju predpisov, vključno s poenostavitvijo obstoječih predpisov, večjim sodelovanjem interesnih skupin, sistematično uporabo ocene učinkov predpisov za nove zakonodajne predloge in uvedbo postopka za opredelitev stroškov administracije. V času slovenskega predsedovanja Svetu EU smo si prizadevali za posamezne cilje, kot je krepitev konkurenčnosti podjetij s spodbujanjem hitre rasti malih in srednje velikih podjetij in ukrepom za zmanjševanje administrativnih ovir, ki jih postavljajo predpisi dostikrat tudi zaradi prenosa uredb in direktiv EU v nacionalni pravni red.

Vsi strateški dokumenti s področja boljše priprave predpisov uvajajo pojem »deležnik«, ki predstavlja zainteresirano javnost, ki sodeluje pri pripravi predpisov. V prispevku želimo poudariti zlasti pomen sodelovanja strokovne in drugih zainteresiranih javnosti z državno upravo v zgodnjih fazah priprave predpisov tako na nacionalni kot EU ravni, da bi skupaj ustvarili predpise, ki upoštevajo načela potrebnosti minimalnega pravnega urejanja, samoomejevanja, sorazmernosti, odgovornosti, dostopnosti, poenostavitve in transparentnosti (Rezolucija o normativni dejavnosti, 2009).

2 SPREMEMBE V PRIPRAVI PREDPISOV

2.1 Odprava administrativnih ovir

Program za odpravo administrativnih ovir je v slovenski državni upravi stekel že leta 2005, saj so številni predpisi po nepotrebnem bremenili državljane in podjetja ter jim postavljali ovire npr. pri pridobivanju raznih dovoljenj, soglasij in odločb. Gre za proces odprave ovir v obstoječih predpisih oz. preprečitve birokratskih postopkov ob nastajanju novih predpisov. Kjer pa brez določenih zahtev ne gre, je potrebno zmanjšati ovire in jih izčrpno pojasniti vsem deležnikom, ki jih predpisi zadevajo. Tudi na fitosanitarnem področju smo v letih 2006 in 2007 v zakonu o zdravstvenem varstvu rastlin in 6 pravilnikih odpravili vse določbe, ki so pri registraciji ali vlaganju zahtevkov in prošnji zahtevale razna potrdila, kopije zapisnikov in odločb drugih organov. Pri svojem delu morajo uradniki sedaj pridobiti taka potrdila in izpiske po uradni dolžnosti iz evidenc in registrov drugih organov, državljani in podjetja pa tako nimajo dodatnih stroškov in zamude časa, ki so predstavljali bremena.

2.2 Odprava ali zmanjšanje administrativnih bremen

Kot administrativna bremena štejemo tisti del administrativnih stroškov, ki nastanejo zgolj zaradi zahtev predpisov (npr. takse in pristojbine) in niso navadni stroški podjetja ali posameznika. Lizbonska strategija si je postavila za cilj zmanjšanje bremen za 25 % do leta 2012. Tudi v Sloveniji si prizadevamo slediti temu cilju, zato bodo postopki sprejemanja predpisov še bolj odprti državljanom in nevladnim organizacijam, da bodo lahko vplivali na spoštovanja načel za boljšo pripravo predpisov vključno s presojo njihovih učinkov, ki postaja nov obvezni element pri pripravi zakonodaje (Resolucija o normativni dejavnosti, 2009).

V Sloveniji delamo neke vrste presojo učinkov zakonov in uredb, medtem ko učinkov predpisov na ravni ministrov sistematično ne presojamo. Ta faza je zelo dobro vpeljana v postopkih sprejemanja EU predpisov, vendar se naše nevladne organizacije premalo vključujejo v razprave evropskih razsežnosti. Slednje velja manj za področje kmetijske politike bolj pa za predpise s področja varne hrane, veterine in zdravstvenega varstva rastlin. V prihodnje bodo ob pripravi predloga vsakega nacionalnega predpisa analitično opredeljeni učinki na podlagi opredelitve problema, ciljev, alternativne možnosti za rešitev problema, ugotavljanja verjetnih okoljskih, gospodarskih in socialnih učinkov, ocene stroškov, primerjave alternativnih možnosti rešitev ter evalvacije predpisa. Evropska komisija sicer oceni te učinke za vsak EU predpis, na nacionalnem nivoju pa jih opredelimo v stališčih, ki jih Slovenija podaja v postopkih sprejemanja EU predpisov.

2.3 Sodelovanje zainteresirane javnosti

Zahtevnejši postopki priprave predpisov bodo v bodoče zahtevali tudi več časa za pripravo. V času prilagajanja nacionalnih predpisov EU zakonodaji smo v letih 2000 do 2004 po sili razmer zelo pogosto spreminjali predpise, jih morda premalo prilagodili nacionalnim posebnostim ter dajali javnosti premalo časa za aktivno sodelovanje v postopku sprejemanja. Tik pred vstopom v EU 1. maja 2004 smo na področju zdravstvenega varstva rastlin v enem letu spremenili 24 predpisov, kar je verjetno neponovljiv rekord. Zakon o zdravstvenem varstvu (2001) smo spreminjali glede na tehnične zahteve direktive 2000/29/ES in potrebe veljavnosti določb za ozemlje RS in kasneje EU spreminjali skoraj letno:

- Osnovni zakon ZZVR-1 (Uradni list RS, št. 45/2001).
- Prva sprememba z zakonom o državni upravi (Uradni list RS, št. 52/2002 - ZDU-1).
- Druga sprememba z »omnibus« zakonom o spremembah in dopolnitvah določenih zakonov na področju kmetijstva in gozdarstva (Uradni list RS, št. 45/2004 – ZdZPKG), ki je spremenil šest in razveljavil en zakon v okviru enega zakonodajnega postopka.
- Tretja sprememba z ZZVR-1A, ko je bilo objavljeno tudi uradno prečiščeno besedilo (ZZVR-1-UPB1; Uradni list RS, št. 23/2005).
- Četrta sprememba z zakonom o društvih (Uradni list RS, št. 61/2006-ZDru-1) in
- Peta sprememba z ZZVR-1B (Uradni list RS, št. 40/2007).

Tako zakon kot njegove spremembe so bili sprejeti po hitrem postopku, ki je omogočal sprejem zakona poprečno v letu dni. To, da je zakon o zdravstvenem varstvu objavljen kot uradno prečiščeno besedilo (Uradni list RS, št. 62/2007; ZZVR-1-UPB2), ne samo prispeva k transparentnosti, ampak sploh omogoča njegovo razumevanje in izvajanje.

Sedaj, ko se je v Republiki Sloveniji po osamosvojitvi in vključitvi v Evropsko unijo končalo zakonodajno urejanje na vseh glavnih področjih, saj so bili sprejeti sistemski zakoni, kodificirana so bila posamezna zakonodajna področja, odpravljene pravne praznine in nejasnosti, v veliki večini nadomeščena uporaba jugoslovanskih predpisov z novo nacionalno

zakonodajo, je potrebno hitrost sprejemanja predpisov umiriti in zagotoviti sodelovanje z javnostjo. To bo doseženo ob spoštovanju postavljenih načel (pravočasnosti, odprtosti, dostopnosti, odzivnosti, transparentnosti, sledljivosti) ter ob upoštevanju minimalnih priporočil, kot je npr. časovni okvir za vključevanje javnosti v proces sprejemanja predpisa, ki bo znašal najmanj 30 do 60 dni ali več (Resolucija o normativni dejavnosti, 2009).

3 EVROPSKA UREDITEV VARNOSTI IZVOZNIH POŠILJK

Ureditev varnosti izvoznih pošiljk v Evropski uniji je primer, ko lahko namesto predpisa velja neka druga, navadno bolj fleksibilna, oblika normiranja ali standardizacije postopkov. V času predsedovanja Svetu EU je imela slovenska ekipa v delovni skupini za reševanje trgovinskih in fitosanitarnih zadev s tretjimi državami priložnost obdelati rezultate ankete o vplivu novih fitosanitarnih zahtev pri tranzitnih in izvoznih postopkih na ozemlju EU, ki niso bile posledica spremembe direktive, ampak gentlemenškega dogovora v obliki sklepa Sveta EU (Concept Paper, 2008). Zaradi težav z izvozom v Rusko federacijo je namreč nemško predsedstvo začelo delo na usklajevanju izvoznih postopkov, ki jih države članice izvajajo za rastline in rastlinske proizvode (npr. sadje, zelenjava, les). Direktiva 2000/29/ES namreč ureja uvozne postopke, izvoznih pa, razen sklica na mednarodno konvencijo o varstvu rastlin in prevzemom enotnega obrazca za izvozno pošiljko (t. i. fitosanitarno spričevalo), ne ureja. Ker je Ruska federacija zahtevala izboljšanje fitosanitarne varnosti, ki jo predpisuje mednarodna konvencija o varstvu rastlin, so se države članice EU, ki so tudi podpisnice konvencije, po posvetovanju odločile za medsebojno obveščanje o pošiljkah in proučile, kako bi lahko v nacionalnih predpisih zavezali izvoznike, da pošiljke po opravljenem fitosanitarnem pregledu in izdaji fitosanitarnega spričevala, ne bi spreminjali. Čeprav je k odločitvi o poenotenju postopkov in boljši izmenjavi informacij prispeval gospodarski interes izvoznikov za velik ruski trg, je portugalsko predsedstvo vodilo pripravo anketnega vprašalnika o vplivih zahtev za registracijo izvoznikov in dodatnega etiketiranja, pakiranja in ločevanja posameznih proizvodov pred izvozom, ki ga je slovensko predsedstvo nato obdelalo in pripeljalo do sklepov.

Na vprašanja, kakšna bremena oziroma vpliv bodo imele nove zahteve na njihovo poslovanje, so odgovarjali tako državni organi kot gospodarska združenja. Bolj intenzivne panoge izvoznikov, ki se ukvarjajo s trgovanjem semena, čebulic, rezanega cvetja, krompirja, sadja in zelenjave, so že sedaj organizirane tako, da blago pakirajo za končnega kupca, ga primerno označijo in zaradi jezikovnih razlik na etiketah ločeno skladiščijo glede na ciljni trg (Preglednica 1). Nove zahteve bi zanje tako ne predstavljale bistvenih dodatnih obremenitev. Mnoge izmed njih imajo vpeljan sistem kakovosti, tako da uradni fitosanitarni nadzor, ki zahteva vodenje evidenc in ravnanje po ustaljenih internih določilih, ne bi predstavljalo bistvenega dodatnega bremena. Drugače pa je s sektorji, ki izvažajo razsuti tovor (npr. zrnje pšenice, koruze itd.) ali les. Dodatne zahteve bi zanje predstavljale nove obremenitve.

Zanimivi so bili odgovori državnih organov, ki sicer morajo implementirati določbe mednarodne konvencije o varstvu rastlin, da je vsaka država izvoznica dolžna poskrbeti za izpolnjevanje fitosanitarnih zahtev države uvoznice in za ohranjanje neoporečnosti pošiljke od izvoznega uradnega potrjevanja (izdaje fitosanitarnega spričevala) do samega fizičnega izvoza pošiljke čez mejo EU. Tako tranzitni kot izvozni fitosanitarni postopki so tesno povezani s carinskimi, vendar kljub temu prihaja do zamenjave blaga, ki je na koncu v uvozni državi neskladno z dokumenti. Nenazadnje se s sadjem in zelenjavo npr. iz Španije ali Grčije v tranzitu do ruske meje lahko zgodi veliko nepredvidenih dogodkov, ki pa jih mora obvladovati izvoznik sam. Zanje ne more biti odgovorna državna fitosanitarna služba. Slednje razumejo tako uradni organi kot podjetja, rezultati ocene vpliva pri obeh skupinah pa so pokazali le pri četrtini držav članic velik vpliv na poslovanje (preglednica 2).

Preglednica 1: Odstotek podjetij, ki že imajo vpeljan ustrezen sistem etiketiranja, pakiranja in ločevanja posameznih proizvodov pred izvozom na vzorcu 7 držav članic EU po sektorjih, kot podlaga za oceno vplivov novih fitosanitarnih zahtev (Concept Paper, 2008).

Sektor	Etiketiranje (%)	Pakiranje (%)	Ločevanje (%)
Zrnje in drugi skladiščni proizvodi *	0/10	0/10	0/10
Drevesnice in druge rastline za saditev*	60/90	50/50	25/100
Tranzit v Rusko federacijo	2,5	5	10
Semena in sadike zelenjave	50	50	30
Les in lesni proizvodi*	2,5/55/67	2/27/100	2/28/100
Seme za setev	100	100	100
Okrasne čebulice	85	90	90
Rezano cvetje	100	100	100
Konzumni krompir	100	90	100
Sadje in zelenjava	67	100	100
Kostanj	50	50	40

*Zaradi velikih odstopanj so prikazane vrednosti posameznih razredov

Zanimiva pa je naša ugotovitev pri nacionalnem usklajevanju novih zahtev, da so deležniki manj pripravljeni in morda tudi manj usposobljeni za sodelovanje v takih postopkih, kot v »starih« državih članicah. Anketni vprašalnik smo prevedli in z dodatno obrazložitvijo poslali na gospodarska združenja in zbornice, ki bi jih določbe zadevale, ter jih povabili na sestanek, kjer smo zahteve dodatno razložili in pridobili njihova mnenja o oceni učinkov. Odziv je bil slab, temeljitejše analize se niso lotili, le nekaj največjih nam je poslalo odgovore na postavljena vprašanja. Prejeli smo celo odgovor, da naj najprej pripravimo predpis, potem pa bodo dali pripombe nanj.

Preglednica 2: Rezultati ankete v državah članicah EU o vplivu novih zahtev o registraciji izvoznikov in zagotavljanju fitosanitarne varnosti pošiljk, namenjenih za izvoz na državne organe in podjetja (Concept Paper, 2008).

Vpliv nove zahteve	Ministrstva / fitosanitarni organi				Podjetja			
	Št. DČ	Velik	Srednj i	Majhe n	Št. DČ	Velik	Srednj i	Majhe n
Vzpostavitev registracije	17	25%	45%	30%	14	25%	47%	28%
Vzdrževanje registracije	17	3%	60%	37%	-	-	-	-
Prepoved aktivnosti glede sestave in zamenjave pošiljk	17	18%	45%	37%	14	37%	24%	39%
Etiketiranje	16	25%	42%	33%	14	37%	21%	42%
Pakiranje	15	11%	48%	41%	14	35%	46%	19%
Ločevanje izvoznih pošiljk	14	41%	51%	8%	14	40%	32%	28%
Uradni nadzor	17	36%	33%	31%	14	22%	62%	16%
Skuno administrativno breme	17	25%	50%	25%	14	28%	43%	29%

4 SPREMEMBA REŽIMA ZDRAVSTVENEGA VARSTVA RASTLIN V EU

Področje zdravstvenega varstva rastlin v EU ureja direktiva Sveta 2000/29/ES z dne 8. maja 2000 o varstvenih ukrepih proti vnosu organizmov, škodljivih za rastline ali rastlinske proizvode, v Skupnost in proti njihovemu širjenju v Skupnosti, ki je bila izdana kot prečiščeno besedilo osnovne direktive 77/93/EGS, sprejete 21. decembra 1976, in njenih 48 sprememb. Glavnina sprememb je nastala zaradi posodobitve seznamov škodljivih organizmov in rastlin v prilogah direktive I - V, ki so jih narekovale nove najdbe organizmov in prepoznana nova tveganja z mednarodno trgovino. Direktiva, ki je v slovenski pravni red prenesena z zakonom o zdravstvenem varstvu rastlin (ZZVR-1), predpisuje omejitve pri vnosu na ozemlje EU glede na nevarnost za zdravje posameznih vrst rastlin ter izvajanje stalnega nadzora škodljivih organizmov (t.i. karantenske liste), za katere je znano, da pomenijo nevarnost povzročitve velike gospodarske škode.

Tudi direktiva 2000/29/ES, ki je glavna direktiva na področju zdravstvenega varstva rastlin (vse ostale direktive Sveta in direktive Komisije so ji podrejene) je bila do leta 2009 že 18-krat spremenjena. Sicer je neuradno prečiščeno besedilo redno objavljeno na spletnih straneh Evropske komisije, da je zagotovljena transparentnost, vendar pogoste spremembe povzročajo težave tako posameznikom in podjetjem, ki pridelujejo, uvažajo in distribuirajo zadevne rastline in rastlinske proizvode, kot nacionalnim ministrstvom, ki direktivo prenašajo v izvedbene predpise. Slovenija je ena redkih držav, ki seznamov rastlin in organizmov iz prilog direktive ne objavlja kot sestavni del nacionalnega predpisa, ampak na uradnih straneh Fitosanitarne uprave, zlasti zaradi zmanjšana obremenitve državne uprave in uporabniku bolj prijaznega tolmačenja sprememb.

Na podlagi usmeritev Lizbonske strategije pa se je v letu 2008 začela ocena prenove režima zdravstvenega varstva rastlin v EU. V času slovenskega predsedovanja Svetu EU je bila v delovni skupini vodij fitosanitarnih služb prva razprava o prenovi sistema, ki je v sklepih Evropski komisiji predlagala, da začne delo na tem zahtevnem področju. Kot se pogosto zgodi, smo tudi tu sledili primeru izdelave strategije za zdravje živali, kjer se je v pripravo strategije vključil celoten sektor in delo za 4 do 5 let vzel kot visoko prioriteto na politični ravni, da bi v 7 letih spremenili režim: 2,5 leti je trajalo usklajevanje med Evropsko komisijo, Evropskim parlamentom in Svetom EU, nadaljnji 2 leti so pripravljali strategijo, ki so jo sklenili septembra 2008, ter pristopili k pripravi zakonodajnega akta. Uradno so naznanili cilje, dobili podporo Sveta ministrov, tako da je vsako naslednje predsedstvo vedelo, kako bodo postopali na tem dosjeju. Organizirali so več posebnih sestankov, konferenc in delavnic, da so pomagali ocenjevalcem. Kasneje so podobno organizirali presojo rezultatov ocene preko sodelovanja deležnikov.

Evropska komisija je za direktivo 2000/29/ES postavila časovni okvir za izdelavo ocene vplivov, akcijskega načrta in predlogov sprememb predpisov: pripravljalna faza ocene stanja je bila končana marca 2009, ocenjevalna faza je načrtovana do konca leta 2011 in delo na pripravi predloga nove direktive ali uredbe za področje zdravstvenega varstva rastlin naj bi teklo od leta 2012 dalje.

Evropska komisija je za oceno vplivov najela izvajalsko agencijo, ki bo kot časovni okvir za izdelavo ocene vplivov vzela obdobje od uveljavitve skupnega evropskega trga 1993 do 2008 za vzorčne države članice, ocenjevali pa bodo 8 področij politik znotraj varstva rastlin (nadzor in kategorizacija škodljivih organizmov, regionalizacija in varovana območja, notranji trg, uvozni režim, fitosanitarni ukrepi za izbruhe in najdbe škodljivih organizmov, itd.) vključno s horizontalnimi področji kot sta organizacija služb ter raziskave in razvoj. Slovenski strokovnjaki za varstvo rastlin bi se morali vključevati v študijo ali pa vsaj izkoristiti posvetovalne faze in aktivno dajati pripombe na izdelane ocene in poročila v stalnih forumih kot so Stalni odbor za zdravje rastlin pri Evropski komisiji in delovne skupine Sveta EU ter v

priložnostnih konferencah in delavnicah, ki jih bo organizirala Komisija. Prva konferenca, odprta za deležnike, je načrtovana v času izdelave ocene za november 2009, druga pa v času, ko bo izdelan osnutek končnega poročila v drugi polovici leta 2010.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

Nove usmeritve pri pripravi predpisov dajejo prednost tudi uveljavitvi sistemov, ki omogočajo hitro, cenejše in enostavnejše poslovanje podjetij in državljanov z državno upravo in drugimi javnimi institucijami. Ureditev področja naj zagotavlja predvsem enostavnejši dostop do informacij in elektronsko poslovanje z državno upravo. Fitosanitarno področje je sorazmerno dobro podprto z javno dostopnimi vsebinami na uradni spletni strani Fitosanitarne uprave in Fito-Info. To strankam olajša dostop do informacij, uradnikom pa prihrani čas in zmanjša možnost napak pri pojasnjevanju številnih postopkov poslovanja na področju. V letu 2008 smo uvedli tudi elektronsko oddajo prijave pridelave rastlin, ki zapadejo fitosanitarnemu nadzoru, informacijska podpora drugim postopkom pa je v izgradnji.

Ne samo globalna gospodarska kriza, tudi dolgoročna politika v državni upravi zahteva racionalizacijo, ki jo bo potrebno uvesti tudi pri pripravi predpisov. Predpisi so tista podlaga pravne države, s katero je določen pravni red, urejeno delovanje državnih organov, ravnanje pravnih subjektov in njihova medsebojna pravna razmerja. Po načelu »manj je več«, bo predpisov v prihodnje manj, a jih bomo skrbno načrtovali, urejali družbena razmerja s predpisi le v primerih, ko zastavljenih ciljev ni mogoče urediti na drug način, dosegali čim širše soglasje o družbeni potrebnosti posameznega posega države s predpisi in skrbeli za tako pravno okolje, ki omogoča mirno reševanje nasprotij, ki jih prinašajo različni interesi v družbi, kar je na fitosanitarnem področju še posebej pogosto.

6 LITERATURA

- Bategelj T. (2008). E-uprava – zavezništvo z uporabniki, Pasadena, Ljubljana, 2008
- Concept Paper on Phytosanitary Security after certification: Overview on the replies from Member States to the Questionnaire.- Council of the European Union, Working Party on Plant Health, Roosendaal Group - Sub group on Transit (DS 516/08 Rev. 1), 5 June 2008, 50 s.
- Evaluation of the Community Plant Health Regime; Terms of Reference.- European Commission, Health And Consumers Directorate-General, Safety of the Food Chain, Biotechnology and Plant Health (RB/svi D(2009) 510172), 18 March 2009, 65 s.
- Metodologija za merjenje administrativnih stroškov, Ministrstvo za javno upravo: 2009, spletni naslov: http://www.mju.gov.si/si/boljsi_predpisi_in_odprava_administrativnih_ovir_oao/merjenje_administrativnih_stroskov/
- Program ukrepov za odpravo administrativnih ovir in zmanjševanje administrativnih bremen do leta 2012 za 25 odstotkov, Ministrstvo za javno upravo: 2009, spletni naslov: http://www.mju.gov.si/si/boljsi_predpisi_in_odprava_administrativnih_ovir_oao/
- Resolucija o normativni dejavnosti.- Državni zbor Republike Slovenije, Odbor za notranjo politiko javno upravo in pravosodje, spletni naslov: <http://www.dz-rs.si/> (2009)
- Zatler R. (2009). Odprava administrativnih ovir, XV. Dnevi javnega prava in javnega managementa, Portorož, 3. in 4. junij 2009

VNOS ORGANIZMOV V RAZISKOVALNE NAMENE V SLOVENIJI V LETIH 1999-2008

Vlasta KNAPIČ¹, Simona MAVSAR², Mojca CELAR³

^{1,2,3}Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, Fitosanitarna uprava RS, Ljubljana

IZVLEČEK

Od leta 1995 je v Evropski uniji (EU) v veljavi posebna zakonodaja, na podlagi katere nacionalne organizacije za varstvo rastlin dodeljujejo dovoljenja v skladu z zahtevami direktive 2008/61/ES (prej 95/44/ES), ki določa pogoje, pod katerimi je mogoče nekatere škodljive organizme, rastline, rastlinske proizvode in druge predmete iz Prilog I do V Direktive Sveta 2000/29/ES, vnesti ali jih premeščati znotraj Skupnosti oziroma na nekaterih njenih varovanih območjih v preskusne ali znanstvene namene in za delo pri žlahtnjenju. Tudi v Sloveniji smo leta 2002 implementirali dodeljevanje dovoljenj za vnos, premeščanje in hranjenje materiala, ki je sicer prepovedan, ter nadzor uporabe tega materiala. Če ugotovimo, da so v raziskovalni ustanovi izpolnjeni predpisani splošni karantenski pogoji, so zadevne aktivnosti dovoljene. Karantenski ukrepi so odvisni od tipa materiala, njegovega izvora ter trajanja, narave in ciljev predvidenih aktivnosti. Enak postopek, kot za vnos karantenskih organizmov, je vpeljan tudi za vnos novih organizmov. V Sloveniji je bilo v obdobju 1999-2008 izdanih 150 dovoljenj za vnos škodljivih organizmov, organizmov za biotično varstvo in drugih novih organizmov. Skupaj je v teh 10 letih 6 raziskovalnih organizacij in ena lokalna skupnost vneslo 79 različnih organizmov za znanstvene namene iz 18 držav (samo Kanada, Kolumbija in ZDA so bile neevropske). Zabeleženega ni bilo nobenega vnosa za žahtnjenje rastlin ali selekcijo.

Ključne besede: zdravje rastlin, karantenski organizmi, škodljivi organizmi, raziskave, žlahtnjenje

ABSTRACT

INTRODUCTION OF ORGANISMS FOR SCIENTIFIC PURPOSES IN SLOVENIA IN THE PERIOD 1999-2008

Since 1994 specific legislation is in place in EU to provide for the granting of licences by National Plant Protection Organizations of Member States in accordance with the requirements of Commission Directive 2008/61/EC (ex 95/44/EC) establishing the conditions under which certain harmful organisms, plants, plant products and other objects listed in Annexes I to V to Council Directive 2000/29/EC may be introduced into or moved within the Community or certain protected zones thereof, for trial or scientific purposes and for work on varietal selections. In 2002 also Slovenia implemented the granting of licences authorising the introduction, movement and keeping of material that would otherwise be prohibited and controls the use of such material. If it is established that in a research institution the general quarantine conditions laid down in legislation are satisfied, the activities concerned are approved. Quarantine measures depend on the type of the material, the place of origin of the material and the duration, nature and objectives of the activities envisaged. The same procedure as for introduction of quarantine organisms also for new organisms is implied. In

¹ univ. dipl. inž. agr., Einspielerjeva 6, SI-1000 Ljubljana

² mag. agr. znan., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

Slovenia 150 introductions of harmful organisms, biological control agents or other new organisms were allowed in the period 1999 – 2008. In total 79 different organisms were introduced for scientific purposes from 18 countries (only Canada, Columbia and USA as non-European) by 6 research institutions and one local municipality in these 10 years. No introduction was registered for plant breeding or varietal selection purposes.

Key words: plant health, quarantine pests, harmful organisms, research, varietal selections

1 UVOD

Organizacije, ki so registrirane za znanstveno in raziskovalno dejavnost oziroma se ukvarjajo z zdravstvenim varstvom rastlin oziroma selekcijo in uvajanjem novih vrst, sort, linij in križancev rastlin, lahko pod določenimi karantenskimi pogoji vnesejo bodisi žive organizme ali pa rastline, ki take organizme lahko vsebujejo, kljub temu, da velja zakonska prepoved. Navadno jih potrebujejo za poskusne, raziskovalne ali razvojne namene in za delo pri žlahtnjenju rastlin.

V Sloveniji je od leta 2002 v veljavi evropski sistem obvladovanja in varstva pred organizmi, ki so škodljivi rastlinam in rastlinskemu proizvodu (Pravilnik o pogojih za uvoz, 2001). Sistem je enak za vse države članice Evropske unije (Direktiva Komisije 2008/61/ES, 2008). Temeljne predpisane zahteve daje krovna Direktiva Sveta 2000/29/ES in več podrejenih uredb, smernic in odločb. Direktiva 2000/29/ES organizme, ki so znani kot zelo škodljivi rastlinam, razvršča v prilogi I in II, ki dajeta podlago za uradne ukrepe v primeru pojava, njihov namerni vnos (uvoz) pa je prepovedan.

Preglednica 1: Pregled prilog in seznamov, ki se nanašajo na prepoved vnosa zaradi karantenskega statusa škodljivih organizmov in rastlin (Direktiva 2000/29/ES).

Priloga I	Škodljivi organizmi (ŠO), katerih vnos in širjenje v EU sta prepovedana. Seznam I.A.I: ŠO, ki niso ugotovljeni na ozemlju EU Seznam I.A.II: ŠO, ki so ugotovljeni na delu ozemlja EU	Karantenska lista: A1 A2
Priloga II	ŠO, katerih vnos in širjenje sta prepovedana, če so navzoči na določeni rastlinski vrsti, delu rastline ali rastlinskemu proizvodu. Seznam II.A.I: ŠO, ki niso ugotovljeni na ozemlju EU Seznam II.A.II: ŠO, ki so ugotovljeni na delu ozemlja EU	Karantenska lista: A1 A2
Priloga III	Rastline, rastlinski proizvodi in drugi nadzorovani predmeti, katerih vnos (*) je prepovedan, zlasti: 1. rastline za saditev (razen plodov in semena): - drevesne vrste <i>Abies</i> Mill., <i>Cedrus</i> Trew, <i>Chamaecyparis</i> Spach, <i>Juniperus</i> L., <i>Larix</i> Mill., <i>Picea</i> A., <i>Pinus</i> L., <i>Pseudotsuga</i> Carr. in <i>Tsuga</i> Carr, <i>Castanea</i> Mill., <i>Quercus</i> L. in <i>Populus</i> L. - rastline z listi <i>Chaenomeles</i> Ldl., <i>Crataegus</i> L., <i>Photinia</i> Ldl. in <i>Rosa</i> L. za saditev, razen rastlin v stadiju mirovanja brez listov, cvetov in plodov Rastline <i>Cydonia</i> Mill., <i>Malus</i> Mill., <i>Prunus</i> L., <i>Pyrus</i> L., <i>Vitis</i> L., <i>Citrus</i> L., <i>Fortunella</i> Swingle, <i>Poncirus</i> Raf. in njihovi križanci, <i>Phoenix</i> spp., in njihovi hibridi ter <i>Fragaria</i> L. - semenski krompir <i>Solanum tuberosum</i> L., in rastline iz rodu <i>Solanum</i> L., ki tvorijo pritlike ali gomolje, ali njihovi hibridi za saditev ter druge rastline iz družine Solanaceae za saditev - rastline za saditev družine Gramineae, razen nekaterih okrasnih trav 2. Izolirano lubje <i>Castanea</i> Mill., <i>Quercus</i> L., <i>Acer saccharum</i> Marsh., <i>Populus</i> L. 3. Zemlja in rastni substrat , ki je v celoti ali delno sestavljen iz zemlje ali trdnih organskih snovi, kot so rastlinski deli, humus, vključno s šoto ali lubjem, razen tistega, ki je v celoti sestavljen iz šote.	—

(*) Vnos oziroma uvoz je prepovedan iz držav, kjer so določeni škodljivi organizmi razširjeni in zlasti iz držav, ki niso članice EU ali vsaj evropske države in so pretežno z drugih celin (Direktiva Komisije 2008/61/ES).

V prilogi III direktive je seznam rastlin, rastlinskih proizvodov in nadzorovanih predmetov, ki jih ni dovoljeno uvažati (Preglednica 1). Prepoved pa velja tudi, če za rastline niso izpolnjene določbe v prilogi II ali posebne fitosanitarne zahteve, navedene v prilogi IV direktive.

Za organizme, uvrščene na sezname direktive 2000/29/ES, je tveganje ob nenadzorovanem vnosu prepoznano, zato so zanje predpisane omejitve. Ker pa obstaja nevarnost za zdravstveno varstvo rastlin tudi v primeru vnosa drugih tujerodnih organizmov, ki bi lahko postali škodljivi za rastline, je potrebno pred vnosom tudi za te proučiti morebitna tveganja ob poskusih, raziskavah in žlahtnjenju, čeprav niso uvrščeni na sezname direktive. Državna organizacija za varstvo rastlin ima v takih primerih možnost na podlagi analize tveganja določiti dodatne zahteve za vnos rastlin ali drugih organizmov.

2 VNOS ŠKODLJIVIH ORGANIZMOV

V Sloveniji je bilo v obdobju 1999–2008 izdanih 150 dovoljenj za vnos škodljivih organizmov, organizmov za biotično varstvo in drugih novih organizmov. Skupaj je v teh 10 letih 6 raziskovalnih organizacij in ena lokalna skupnost vneslo 79 različnih organizmov za znanstvene namene iz 18 držav (samo Kanada, Kolumbija in ZDA so bile neevropske). V letih 1999 do 2003 so prevladovali vnosi organizmov za biotično varstvo rastlin (Mavsar in Knapič, 2007), kasneje pa vnosi novih oziroma karantenskih organizmov, ki so jih vnašale pooblaščen organizacije: Kmetijski inštitut Slovenije (30 organizmov), Nacionalni inštitut za biologijo (29 organizmov), Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo (4 organizmi), Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (2 organizma) ter Gozdarski inštitut Slovenije (1 potencialni karantenski organizem). Vnosi po vrstah organizmov in izvoru so v preglednici 2.

3 SELEKCIJSKO IN ŽLAHTNITELJSKO DELO

V zadnjih 10 letih nadzora vnosa nismo uradno zabeležili nobene prijave uvoza prepovedanih rastlin za selekcijsko in žlahtniteljsko delo. Sklepati je mogoče, da je povezava med žlahtnjenjem in varstvom rastlin šibka, saj tovrstne določbe s prevzemom EU zakonodaje niso nove - sorodne določbe so veljale že v prejšnji državi (Pravilnik o pogojih, 1977). Zato namesto razprave na kratko podajamo zahteve za preverjanje škodljivih organizmov. Kadar namreč za selekcijsko in žlahtniteljsko delo uvažamo rastline ali njihove dele za razmnoževanje, je potrebno še posebej paziti na karantenske ukrepe pri vnosu, delu, hranjenju oziroma uničevanju poskusnega materiala. Preden take rastline sprostimo iz karantene, zlasti če vstopajo v certifikacijske sheme kot matične rastline, jih je potrebno po posebnih protokolih pretestirati (priloga III direktive 2008/61/ES).

Posebna pozornost mora biti namenjena rastlinam, lubju ali zemlji, kot je opredeljeno v Prilogi III Direktive 2000/29/ES (preglednica 1). Za naše razmere je žlahtnjenje agrumov manj pomembno, zato se bomo osredotočili na raziskovalno in poskusno delo s sadnimi rastlinami, vinsko trto in krompirjem.

3.1 Sadne rastline

Kadar vnašamo rastlinske vrste oziroma njihove hibride iz rodov *Cydonia* Mill., *Malus* Mill., *Prunus* L., *Pyrus* L. ter *Fragaria* L., namenjene sajenju (cepiče, podlage ali sadike), jih je potrebno vsaj za eno rastno dobo namestiti v karantenski objekt in z njimi ravnati kot s karantenskimi organizmi (zavarovati dostop nepooblaščenih, preprečiti vnos žuželk, skrbeti za higieno pri delu in oskrbi itd.). Pred nadaljnjo uporabo jih je potrebno obdelati v skladu s strokovnimi smernicami FAO/IPGRI in material v celoti indeksirati. Rastlinski material,

namenjen odobritvi za uradno sprostitve, se shranjuje v razmerah, ki omogočajo normalen ciklus vegetativne rasti. Potrebno ga je redno vizualno pregledovati za znamenja ali znake škodljivih organizmov, vključno z vsemi škodljivimi organizmi, uvrščenimi v priloge Direktive 2000/29/ES.

Preglednica 2: Vnos karantenskih in drugih nadzorovanih organizmov v raziskovalne namene v Sloveniji v letih 1999–2008 (status organizmov glede na uvrstitev na sezname direktive 2000/29/ES).

Organizem / predmet	Status	Izvor
Blueberry scotch virus	Nov	IT
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	II.A.I	DE, PT
<i>Chrysanthemum stunt viroid</i>	I.A.I	UK
Citrus exocortis viroid	I.A.I	UK
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	I.A.II	NL UK
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	II.A.II	FR
<i>Dalbulus maidis</i>	Nov	ZDA
<i>Diabrotica virgifera virgifera</i>	I.A.II	H
<i>Dissoconium aciculare</i>	Nov	ZDA
<i>Elsinoë</i> sp.	Nov	ES
<i>Erwinia amylovora</i>	II.A.II	BE, CA, CH, DE, NL, NZ, SI, UK
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	II.A.II	NL
<i>Eutypella parasitica</i>	NNŠO	HR
<i>Fusarium circinatum</i>	I.A.I	ES
<i>Fusarium foetens</i>	II.A.I	Kolumbija
<i>Fusarium lunatum</i>	Nov	ZDA, ES
<i>Globodera rostochiensis</i>	I.A.II	DE, FR, HR
<i>Globodera pallida</i> Stone	I.B (SI)	FR, HR
Grapevine fanleaf virus	NNŠO	FR
<i>Guignardia citricarpa</i>	II.A.I	ES
<i>Guignardia mangiferae</i>	Nov	ES
<i>Humulus lupulus</i>	Rastl.	ZDA
Lettuce mosaic potyvirus	II.A.II	NL
Maize bushy stunt	Nov	ZDA
Mexican papita viroid	I.A.I	UK
<i>Monilinia fructicola</i>	I.A.I	NL, ES
<i>Monilinia gaylussaciae</i>	Nov	UK
<i>Monilinia vaccinii-corymbosi</i>	Nov	UK, ZDA

Organizem / predmet	Status	Izvor
<i>Peltaster fructicola</i>	Nov	ZDA
Pepino mosaic virus	Nov	BE, N, UK, ZDA
<i>Phytophthora cactorum</i>	NNŠO	UK
<i>Phytophthora fragariae</i> var. <i>fragariae</i>	II.A.II	UK
<i>Phytophthora ramorum</i>	Nov	BE
Plum pox virus	II.A.II	SI, HR
Potato spindle tuber viroid	I.A.I	NL, UK
<i>Ralstonia solanacearum</i>	I.A.II	UK
<i>Scaphoideus titanus</i>	NNŠO	BIH
Tomato chlorotic dwarf viroid	I.A.I	UK
Tomato planta macho viroid	I.A.I	UK
Tomato ringspot nepovirus	I.A.I	DE
Tomato yellow leaf curl bigeminivirus	II.A.II	NL
<i>Verticillium albo-atrum</i> , <i>Verticillium dahliae</i>	II.A.II	UK
Vironosne ogorčice	NNŠO	CG
Virusi na <i>Vitis</i>	Rastl.	ZDA, FR, IT
<i>Vitis</i> L. z listi in <i>Prunus</i> sp. z listi	Rastl.	CG, H
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>citri</i>	II.A.I	NL
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>	II.A.II	NL
<i>Xiphinema americanum</i> Cobb <i>sensu stricto</i>	NNŠO	ZDA
<i>Xiphinema americanum sensu lato</i>	NNŠO	UK
<i>Xiphinema californicum</i>	NNŠO	ZDA
<i>Xiphinema rivesi</i>	NNŠO	ZDA
<i>Xylella fastidiosa</i>	I.A.I	NL, ZDA
<i>Xylophilus ampelinus</i>	II.A.II	NL
Zemlja	-	CG

3.1.1 Jagode

Ne glede na državo izvora rastlinskega materiala pri preizkušanju jagodnjakov *Fragaria* L. uporabljajo ustrezne laboratorijske testne metode in po potrebi indikatorske rastline (*Fragaria vesca*, *F. virginiana* in *Chenopodium* spp.), da odkrijejo vsaj viruse (Arabis mosaic, Raspberry ringspot, Strawberry crinkle, Strawberry latent „C“, Strawberry latent ringspot, Strawberry mild yellow edge, Strawberry vein banding, Tomato black ring in Tomato

ringspot), fitoplazme kot je Strawberry witches broom, bakterije kot je *Xanthomonas fragariae* Kennedy & King in glive kot sta *Colletotrichum acutatum* Simmonds in *Phytophthora fragariae* Hickman var. *fragariae* Wilcox & Duncan.

3.1.2 Jablane

Pri preizkušanju jablan iz rodu *Malus* Mill. uporabljajo ustrezne laboratorijske testne metode in po potrebi indikatorske rastline za ugotavljanje fitoplazme Apple proliferation, virusov Cherry rasp leaf (ameriški sev), Tobacco ringspot in Tomato ringspot ter bakterije *Erwinia amylovora* (Burr.) Winsl. *et al.*

3.1.3 Koščičarji

Pri preizkušanju koščičarjev iz rodu *Prunus* L. uporabljajo ustrezne laboratorijske testne metode in po potrebi indikatorske rastline (kot ustreza preverjanju okužbe za vsako posamično vrsto) za ugotavljanje fitoplazme Apricot chlorotic leafroll (European Stone Fruit Yelows - ESFY), virusa Cherry rasp leaf (ameriški sev) in bakterije *Pseudomonas syringae* pv. *persicae* (Prunier *et al.*) Young *et al.*

Ne glede na državo porekla rastlinskega materiala pri preizkusih uporabljajo ustrezne laboratorijske metode in po potrebi indikatorske rastline za viruse Little cherry pathogen (neevropski izolati), Peach mosaic (ameriški sev), Plum line pattern (ameriški sev), Plum pox, Tomato ringspot in Peach rosette mosaic, rikecijo Peach phony, fitoplazme Peach rosette, Peach X-disease in Peach yellows ter bakterijo *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* (Smith) Dye..

3.1.4 Kutine in hruške

Pri kutinah iz rodu *Cydonia* Mill. in hruškah iz rodu *Pyrus* L. se ne glede na državo izvora rastlinskega materiala pri preskusih uporabijo ustrezne laboratorijske metode in po potrebi indikatorske rastline za odkritje najmanj bakterije *Erwinia amylovora* (Burr.) Winsl. *et al.* in fitoplazme Pear decline.

3.2 Vinska trta

Kadar vnašamo cepiče, podlage ali sadike iz rodu *Vitis* L., jih je potrebno namestiti v karantenski objekt in z njimi ravnati kot s karantenskimi organizmi. Pred nadaljnjo uporabo jih je potrebno obdelati v skladu s strokovnimi smernicami FAO/IPGRI in material v celoti indeksirati. Rastlinski material, namenjen odobritvi za uradno sprostitev in rastline za indeksiranje, se shranjuje v razmerah, ki omogočajo normalen cikel vegetativne rasti. Potrebno ga je redno vizualno pregledovati za znamenja škodljivih organizmov, vključno s trtno ušjo *Daktulosphaira vitifoliae* (Fitch) in vsemi bistvenimi škodljivimi organizmi, uvrščenimi v priloge Direktive 2000/29/ES.

Kadar rastlinski material izvira iz države, ki ni znana kot prosta določenih škodljivih organizmov, se preizkušanje opravi po ustrezni laboratorijski metodi in če so rezultati negativni, se rastlinski material indeksira, in sicer:

- za bolezen Ajinashika na sorti vinske trte Koshu in shrani za opazovanje najmanj dva cikla rastne dobe;
- za virus Grapevine Stunt z ustreznimi indikatorskimi rastlinami, skupaj s sorto vinske trte Campbell early, opazovanje pa poteka eno leto;

- za bolezen Summer mottle z ustreznimi indikatorskimi rastlinami, skupaj s sortami vinske trte Sideritis, Cabernet Franc in Mission;
- za virus Blueberry leaf mottle, Peach rosette mosaic, Tobacco ringspot, Tomato ringspot (sev „rumenenja žil“ in drugi sevi), fitoplazmo Grapevine Flavescence dorée in druge trsne rumenice, bakteriji *Xylella fastidiosa* (Well & Raju) in *Xylophilus ampelinus* (Panagopoulos) Willems *et al.* po potrebi uporabijo indikatorske rastline.

3.3 Krompir

Kadar vnašamo rastlinske vrste, ki oblikujejo stolone ali gomolje iz rodu *Solanum* L. ali njihove hibride, namenjene za saditev, jih je potrebno namestiti v karantenski objekt in z njimi ravnati kot karantenskimi organizmi. Pred nadaljnjo uporabo jih je potrebno obdelati v skladu s strokovnimi smernicami FAO/IPGRI in vsako enoto rastlinskega materiala indeksirati. Rastlinski material, namenjen odobritvi za uradno sprostitev in rastline za indeksiranje se shranjuje v razmerah, ki omogočajo normalen ciklus vegetativne rasti. Potrebno ga je redno vizualno pregledovati za znamenja škodljivih organizmov, vključno z vsemi bistvenimi škodljivimi organizmi, uvrščenimi v priloge Direktive 2000/29/ES ter boleznijo Potato yellow vein.

3.3.1 Indeksiranje

Indeksiranje je treba opravljati po določenih protokolih, da bi odkrili vsaj naslednje škodljive organizme:

- bakteriji *Clavibacter michiganensis* (Smith) Davis *et al.* ssp. *sepedonicus* (Spieckermann et Kotthoff) Davis *et al.* in *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*
- viroid Potato spindle tuber ter viruse Andean potato latent, Potato black ringspot, Potato yellowing alfamovirus, virus Potato T, Andean potato mottle, navadni krompirjevi virusi A, M, S, V, X in Y (tudi Yo, Yn, Yc) in virus Potato leaf roll.

Indeksiranja opravijo tudi pri pravem krompirjevem semenu zlasti zato, da bi odkrili vsaj viruse in njim podobne organizme.

3.3.2 Testiranje bakterij

Zgoraj navedeni rastlinski material, na katerem je bil opravljen vizualni pregled in so bila na njem opažena znamenja in znaki škodljivih organizmov, je potrebno pretestirati in določiti škodljive organizme, zlasti bakterije:

- Na standardnem vzorcu 200 gomoljev testirajo popek (hilum) vsakega gomolja.
- Pri mladih rastlinah in potaknjencih, skupaj z mikro-rastlinami, v vsaki enoti rastlinskega materiala testirajo spodnje dele stebela, če je potrebno, pa tudi korenine.
- Pri testiranju kaličev ali stebelnih baz za vrste, ki ne oblikujejo gomoljev, je priporočljiv en normalen ciklus vegetativne rasti po testiranju starševskih gomoljev ali mladih rastlin.

Testni protokoli za bakterijo krompirjeve obročkaste gnilobe *Clavibacter michiganensis* (Smith) Davis *et al.* ssp. *sepedonicus* (Spieckermann et Kotthoff) Davis *et al.* so v Evropski uniji določeni v Prilogi 1 Direktive Sveta 93/85/EGS. Testni protokoli za bakterijo krompirjeve rjave gnilobe *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* pa so določeni v Prilogi II Direktive Sveta 98/57/EC. Obe direktivi sta bili zaradi sprememb protokolov posodobljeni leta 2006.

3.3.3 Testiranje virusov

Minimalno testiranje rastlinskega materiala (gomolji, mlade rastline, potaknjenci, skupaj z mikro-rastlinami) obsega serološki test, opravljen ob času cvetenja ali blizu tega za vsak škodljiv organizem, ki je na posebnem seznamu, razen za viroid vretenatosti krompirjevih gomoljev Potato spindle tuber (PSTVd). Sledi mu biološki test materiala z negativnimi rezultati pri serološkem testu. Pri virusu zvijanja krompirjevih listov je potrebno opraviti dva serološka testa.

Minimalno testiranje pravih semen opravijo v obliki serološkega testa ali pa biotičnega testa, kadar serološki test ni mogoč. Zelo priporočljivo je ponovno testiranje deleža negativnih vzorcev in mejnih rezultatov z drugo metodo.

Serološko in biotično testiranje, se opravi na rastlinah, zraslih v rastlinjaku in vzorčenih vsaj na dveh delih vsakega stebela, skupaj z mladim, polno razprostrtim lističem na vrhu vsakega stebela, in starejšim lističem s sredine stebela; zaradi mogoče nesistemske okužbe vzorčijo vsako steblo. Pri serološkem testiranju lističev z različnih rastlin ne smemo združevati, razen takrat, ko je za metodo uporabe potrjena stopnja združevanja; lističe z vsakega stebela pa je mogoče združevati, in sicer zaradi pridobitve vzorca z vsake rastline. Pri biotičnem testiranju lahko združujemo vzorce z največ petih rastlin, pri čemer cepimo najmanj dve indikatorski rastlini.

Ustrezne indikatorske rastline, ki jih uporabljajo za biotično testiranje, so tiste, ki so na seznamu Evropske in Mediteranske organizacije za varstvo rastlin (EPPO), ali druge uradno potrjene indikatorske rastline, ki dokazano odkrijejo viruse.

Iz karantene sprostimo le tisti material, ki je bil neposredno testiran. Kjer pa je bilo opravljeno indeksiranje oces, je mogoče sprostiti le poganjke testiranih oces. Gomolja ni dovoljeno sprostiti, in sicer zaradi možnih težav z nesistemske okužbo.

3.3.4 Testiranje viroida PSTVd

Za viroid vretenatosti krompirjevih gomoljev (PSTVd) pri vsem materialu testirajo rastline, gojene v rastlinjaku, in sicer takoj, ko se dodobra primejo, vendar še pred cvetenjem in nastajanjem cvetnega prahu. Pri gomoljevih kaličih ali rastlinah *in vitro* ali majhnih sadikah testiranje upoštevajo le kot predhodni test. Vzorce je treba jemati s polno razprostrtega lističa na vrhu vsakega rastlinskega stebela.

Ves material za testiranje je treba gojiti pri temperaturah, ki niso nižje od 18 °C (najbolje pa je, če so višje od 20 °C) in ob vsaj 16 ur trajajoči dnevni svetlobi. Testiranje poteka z radioaktivno ali neradioaktivno označenimi cDNA ali RNA-sondami, povratno-PAGE (z barvanjem s srebrom) ali RT-PCR. Najvišja stopnja združevanja za sonde in povratno-PAGE je 5.

4 RAZPRAVA IN SKLEPI

V letih 1999 do 2008 je bilo v Sloveniji uradno registriranih 150 vnosov škodljivih organizmov, organizmov za biotično varstvo in drugih novih organizmov povečini iz evropskih držav. Skoraj vse vnose za znanstvene namene je opravilo 5 raziskovalnih organizacij, ki so vključene v državno organizacijo za varstvo rastlin kot izvajalci javnih pooblastil, imajo znanstveno kvalificirano osebje, ki izvaja dejavnosti in imajo urejene karantenske objekte, kjer material ustrezno gojijo, uporabljajo in hranijo ter ga po končanih raziskavah tudi neškodljivo uničijo. Zaskrbljujoče je, da uradno ni bilo zabeleženega

nobenega vnosa za žahtnjenje rastlin ali selekcijo. Ali v Sloveniji to poteka samo z materialom evropskega izvora, za katerega dovoljenje za delo ni potrebno, bo pokazal čas.

5 LITERATURA

- Direktiva Komisije 2008/61/ES z dne 17. junija 2008 o določitvi pogojev, pod katerimi je mogoče nekatere škodljive organizme, rastline, rastlinske proizvode in druge predmete, iz Prilog I do V Direktive Sveta 2000/29/ES, vnesti ali jih premeščati znotraj Skupnosti oziroma na nekaterih njenih varovanih območjih v preizkusne ali znanstvene namene in za delo pri žlahtnjenju.- Uradni list Evropske unije z dne 18.6.2008 SL, L 158, s. 41-54
- Direktiva Sveta 2000/29/ES z dne 8. maja 2000 o varstvenih ukrepih proti vnosu organizmov, škodljivih za rastline ali rastlinske proizvode, v Skupnost in proti njihovemu širjenju v Skupnosti, zadnjič spremenjena z Direktivo Komisije 2009/7/ES z dne 10. februarja 2009 o spremembi prilog I, II, IV in V k Direktivi Sveta 2000/29/ES o varstvenih ukrepih proti vnosu organizmov, škodljivih za rastline ali rastlinske proizvode, v Skupnost in proti njihovemu širjenju v Skupnosti.- Uradni list Evropske unije z dne 11.2.2009 SL, L 158, s. 12
- Mavsar S., V., Knapič (2007). Ureditev biotičnega varstva rastlin v Sloveniji.- Zbornik predavanj in referatov 8. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 6.-7. marec 2007, s. 55-57
- Pravilnik o pogojih za uvoz ali premeščanje določenih škodljivih organizmov, rastlin, rastlinskih proizvodov in nadzorovanih predmetov za poskusne, raziskovalne ali razvojne namene in za delo pri žlahtnjenju rastlin.- Uradni list Republike Slovenije, 69 (2001) in 40 (2004)
- Pravilnik o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati karantenski objekti za preverjanje zdravstvenega stanja rastlin.- Uradni list SFRJ, št. 53 (1977)

NADZOR IZVAJANJA UKREPOV ZA PREPREČEVANJE ŠIRJENJA KORUZNEGA HROŠČA

Milan LUKMAN¹, Joži JERMAN CVELBAR²

^{1,2} Ministrstvo za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano, Inšpektorat RS za kmetijstvo, gozdarstvo
in hrano, Fitosanitarna inšpekcija

IZVLEČEK

Koruzni hrošč *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte je pomemben škodljivec na koruzi, ki je bil v Sloveniji prvič ugotovljen leta 2003. Prvi hroščki so bili potrjeni v Prekmurju in Podravju ob meji z Madžarsko in Hrvaško. Prvi ukrepi za zatiranje koruznega hrošča so v Republiki Sloveniji bili sprejeti v letu 2004 z Odločbo o razmejitvi območij napada in ukrepih za zatiranje koruznega hrošča. V letu 2004 je bil sprejet tudi Pravilnik o fitosanitarnih ukrepih za preprečevanje širjenja koruznega hrošča, ki je še podrobneje opredelil te ukrepe. Fitosanitarna inšpekcija, ki v okviru IRSKGH deluje kot del nacionalne organizacije za varstvo rastlin Republike Slovenije, je po Zakonu o zdravstvenem varstvu rastlin pooblaščen za inšpekcijski nadzor izvajanja ukrepov, predpisanih z zakonodajo. Nadzor izvajanja ukrepov za preprečevanje širjenja koruznega hrošča smo začeli izvajati v letu 2005. Letno je bilo na razmejenih območjih koruznega hrošča pod nadzor vključenih 198 do 627 pridelovalcev koruze. Delež ugotovljenih pridelovalcev koruze, ki niso izvedli vseh ukrepov za preprečevanje širjenja koruznega hrošča niha od 5 do 29%. Če v analizo vključimo pridelovalne parcele, ugotovimo, da delež parcel na katerih niso bili izvedeni odrejeni ukrepi v letu 2007 znaša 5,5 %, v letu 2008 pa 5,4 %. Neizvajanje ukrepov je ugotovljeno pretežno na manjših parcelah s površino pod 0,5 ha in to v hribovitih živinorejskih območjih, kjer je strojno spravilo žitaric oteženo.

Ključne besede: koruzni hrošč, fitosanitarni inšpekcijski ukrepi

ABSTRACT

SUPERVISION OF IMPLEMENTATION OF MEASURES TO PREVENT THE SPREAD OF WESTERN CORN ROOTWORM

Western corn rootworm *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte is an important pest which infests corn. First findings of *Diabrotica v. virgifera* in Slovenia date back to 2003. First beetles were found in the area of Prekmurje and Podravje near the border with Hungary and Croatia. To prevent the spread of western corn rootworm in Slovenia, first measures were adopted in 2004 with the Decision on demarcated zones and measures to prevent the spread of western corn rootworm, and the Rules on phytosanitary measures with regard to the spread of *Diabrotica v. virgifera* Le Conte. Phytosanitary Inspectorate is a part of the National Plant Protection Organisation and operates within the framework of the Inspectorate of Agriculture, Forestry and Food. It is authorised to inspect if the measures provided for by the national legislation. The supervision of implementation of the measures to prevent the spread of western corn rootworm started in 2005. Annually, from 198 to 627 producers of corn have been inspected in the demarcated zones of *Diabrotica v. virgifera*. The percentage share of infringers ranges from 5% to 29%. But taking into account production agricultural

¹ univ. dipl. inž. agr., Ormoška 3, 9240 Ljutomer

² univ. dipl. inž. agr., Parmova 33, 1000 Ljubljana

parcels, the percentage share of the agricultural parcels where appropriate measures have not been taken was 5.5% in 2007 and 5.4% in 2008. Most frequently, the measures have not been implemented on livestock farms with smaller agricultural parcels (total area of less than 0.5 ha) which are located in hilly areas where machine harvesting of corn is difficult.

Key words: western corn rootworm, phytosanitary inspection measures

1 UVOD

Koruzni hrošč, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, je neavtohtona žuželka v Evropi in je pomemben škodljivec koruze, ki smo ga v Sloveniji prvič odkrili leta 2003. V primeru prerazmnožitve lahko na koruzi naredi pomembno gospodarsko škodo. Na podzemnih delih koruze delajo škodo ličinke, ki objedajo korenine, na nadzemnih delih rastline, pa škodo povzročajo odrasli osebki, ki se hranijo s tkivom listov, cvetnim prahom, s svilo in nastajajočimi zrni koruze.

Zaradi gospodarske pomembnosti navedenega škodljivca, je Evropska Komisija leta 2003 sprejela odločbo (2003/766/ES) o nujnih ukrepih za preprečevanje širjenja koruznega hrošča *Diabrotica v. virgifera* LeConte v Skupnosti. Na podlagi te odločbe je v Sloveniji bil sprejet Pravilnik o fitosanitarnih ukrepih za preprečevanje širjenja koruznega hrošča (Ur. list RS, št. 21/04), kateri je bil dopolnjen v letu 2006 (Ur. list RS, št. 106/2006).

S pravilnikom so predpisani fitosanitarni ukrepi, ki jih morajo za preprečevanje širjenja koruznega hrošča izvajati pridelovalci koruze na razmejenih območjih. Med temi ukrepi so: prepoved premeščanja svežih rastlin koruze izven žarišča napada v času maksimalnega naleta; prepoved spravila koruze v žarišču v času naleta; prepoved premeščanja zemlje s koruznih polj iz žarišča napada, preko celega leta; odstranjevanje samoniklih rastlin koruze s polj, kjer se kuzuza ne prideluje; dvoletni kolobar v zadrževalnem območju, tako da se kuzuza prideluje na istem zemljišču samo enkrat v dveh zaporednih letih, ali triletni kolobar, tako da se kuzuza na istem zemljišču prideluje le dvakrat v treh zaporednih letih in sicer da je drugič posejana po izleganju ličink (t. i. strniščna setev), ali triletni kolobar, tako da se kuzuza na istem zemljišču prideluje dvakrat v treh zaporednih letih in sicer vsakič v kombinaciji z učinkovito uporabo insekticidov proti odraslim koruznim hroščem. Dovoljena je tudi uporaba drugih ukrepov, ki dosežejo podobno raven obvladovanja tega organizma, zlasti setev z insekticidom tretiranega semena koruze v drugem zaporednem letu setve koruze.

Cilj ukrepov je obvladati koruznega hrošča, tako da ne povzroča gospodarske škode in se upočasni njegovo širjenje.

2 MATERIAL IN METODE

V skladu z Zakonom o zdravstvenem varstvu rastlin je za inšpekcijski nadzor izvajanja ukrepov na področju zdravstvenega varstva rastlin pristojna fitosanitarna inšpekcija. Nadzor izvajanja ukrepov za preprečevanje širjenja koruznega hrošča je fitosanitarna inšpekcija začela izvajati leta 2005 na takrat razmejenih območjih, to je v organizacijskih enotah fitosanitarne inšpekcije Murska Sobota in Nova Gorica. S širjenjem koruznega hrošča na ostala območja Slovenije se je širilo tudi območje nadzora izvajanja ukrepov. Nadzor je bil izveden na mestih pridelave pri pridelovalcih koruze in to na vseh parcelah, ki so jih nadzorovani pridelovalci imeli v uporabi.

Kot podlaga za inšpekcijski nadzor je bil opravljen administrativni nadzor na podlagi podatkov Agencije za kmetijske trge in razvoj podeželja o GERK-ih in letu razmejitve za posamezni GERK. Podatke je obdelal Kmetijski inštitut Slovenije.

Metoda obdelave podatkov za administrativni nadzor: Preseki razmejenih območij po letih z GERK-i so bili narejeni po časovnem zaporedju: najprej 2004 < 2005 < 2006 < 2007 . Pri tem je veljala določba pravilnika, da če sloj koruznega hrošča seka GERK vsaj v eni točki, pade GERK na razmejeno območje. Posledično je en GERK samo v enem območju. Pri določanju ničelnega leta, to je leta začetka izvajanja ukrepov, se je upošteval čas razmejitve znotraj enega leta: za razmejitve v času letanja koruznega hrošča je ničelno leto isto leto, za razmejitve po koncu letanja pa naslednje leto.

Iz seznama pridelovalcev so bili znotraj posameznih pridelovalnih območij, oziroma organizacijskih enot fitosanitarne inšpekcije naključno odbrani pridelovalci, pri katerih je bil opravljen inšpekcijski nadzor. Inšpekcijski pregledi na terenu so bili izvedeni v času od junija do začetka septembra.

3 REZULTATI

V obdobju 2005 do 2008 je fitosanitarna inšpekcija v RS na razmejenih območjih koruznega hrošča opravila neposreden nadzor izvajanja ukrepov za preprečevanje širjenja koruznega hrošča pri 1706 pridelovalcih korenine.

Med nadzorovanimi pridelovalci korenine je bilo po posameznih območjih ugotovljeno do 29 % kršiteljev, oziroma tistih, ki niso izvedli odrejenih ukrepov. Tem je bila izdana odločba o prepovedi setve korenine za naslednje leto in izrečeno opozorilo po Zakonu o prekrških ali izdan plačilni nalog.

Delež parcel, oziroma GERK-ov na katerih niso bili izvedeni ukrepi za preprečevanje širjenja koruznega hrošča znaša v povprečju 5,5%.

Neizvajanje ukrepov je bilo ugotovljeno pretežno na manjših parcelah s površino pod 0,5 ha in to v hribovitih območjih.

Preglednica 1: Opravljeni inšpekcijski pregledi za nadzor izvajanja ukrepov za preprečevanje širjenja koruznega hrošča v letu 2005

Enota FSI	Št. nadzorovanih imetnikov rastlin	Št. kršiteljev	Število opozoril po ZP	Število plačilnih nalogov	Delež kršiteljev v %
Murska Sobota	139	41	24	17	29,4
Nova Gorica	59	3	2	1	5,1
Skupaj	198	44	26	18	22,2

Preglednica 2: Opravljeni inšpekcijski pregledi za nadzor izvajanja ukrepov za preprečevanje širjenja koruznega hrošča v letu 2006

Enota FSI	Št. nadzorovanih imetnikov rastlin	Št. kršiteljev	Število opozoril po ZP	Število plačilnih nalogov	Delež kršiteljev v %
Maribor	134	13	8	5	9,7
Murska Sobota	366	48	38	10	13,1
Nova Gorica	127	9	9	0	7,1
Skupaj	627	70	55	15	11,1

Preglednica 3: Opravljeni inšpekcijski pregledi za nadzor izvajanja ukrepov za preprečevanje širjenja koruznega hrošča v letu 2007

Enota FSI	Št. nadzorovanih imetnikov rastlin	Št. kršiteljev	Število opozoril po ZP	Število plačilnih nalogov	Delež kršiteljev v %
Murska Sobota	197	23	17	6	11,6
Maribor	115	17	11	6	14,7
Celje	30	8	8	0	26,6
Nova Gorica	78	9	8	1	11,5
Skupaj	420	57	44	13	13,5

Preglednica 4: Opravljeni inšpekcijski pregledi za nadzor izvajanja ukrepov za preprečevanje širjenja koruznega hrošča v letu 2007 po GERK-ih.

Enota FSI	Št. Pregledanih GERK-ov	Št. GERK-ov z izvedenimi ukrepi	Št. GERK-ov z neizvedenimi ukrepi	Delež kršitev v %
Murska Sobota	850	813	37	4,3
Nova Gorica	133	124	9	6,7
Maribor	419	391	28	6,6
Celje	118	108	10	8,4
Skupaj	1520	1436	84	5,5

Preglednica 5: Opravljeni inšpekcijski pregledi za nadzor izvajanja ukrepov za preprečevanje širjenja koruznega hrošča v letu 2008

Enota FSI	Št. nadzorovanih imetnikov rastlin	Št. kršiteljev	Število opozoril po ZP	Število plačilnih nalogov	Delež kršiteljev v %
Murska Sobota	164	21	20	1	12,8
Nova Gorica	51	15	14	1	29,4
Maribor	100	22	17	5	22,0
Celje	85	9	8	1	10,6
Ljubljana	21	6	5	1	28,6
Novo Mesto	20	1	1	0	5,0
Kranj	20	0	0	0	0,0
Skupaj	461	74	65	9	16,1

Preglednica 6: Opravljeni inšpekcijski pregledi za nadzor izvajanja ukrepov za preprečevanje širjenja koruznega hrošča v letu 2008 po GERK-ih.

Enota FSI	Št. Pregledanih GERK-ov	Št. GERK-ov z izvedenimi ukrepi	Št. GERK-ov z neizvedenimi ukrepi	Delež kršitev v %
Murska Sobota	704	679	25	3,6
Nova Gorica	134	111	23	17,2
Maribor	314	284	30	9,6
Celje	319	305	11	3,5
Ljubljana	43	35	8	18,6
Novo Mesto	102	101	1	0,9
Kranj	186	186	0	0,0
Skupaj	1802	1701	98	5,4

4 SKLEPI

- Koruzni hrošč je za pridelovalce koruze v Sloveniji postal njihov stalni spremljevalec in z njim se bo treba naučiti živeti;
- Glede na razširjenost koruznega hrošča, danes v Sloveniji ne moremo več govoriti le o ukrepih za preprečevanje širjenja koruznega hrošča, ampak bolj o ukrepih za preprečevanja nastajanja škode na posevkih;
- Glavni ukrep za preprečevanje nastajanja škode na posevkih koruze je bil in ostaja kolobar;
- Predpisani ukrepi sicer niso preprečili širjenja koruznega hrošča, so pa pomagali zadržati pojav škode na posevkih koruze, katere v Sloveniji še nismo evidentirali;
- Za uveljavitev in zagotovitev izvajanja predpisanih ukrepov pri pridelovalcih je bil potreben tudi neposredni inšpekcijski nadzor;
- Kršitve predpisanih ukrepov so bile ugotovljene predvsem na manjših površinah (čez 70% nadzorovanih parcel je bilo manjših od 0,5 ha) pri pridelovalcih, ki koruzo pridelujejo na hribovitih predelih, kjer žit s kombajni ne morejo žeti. Med večjimi pridelovalci koruze je bilo manj kršiteljev, saj so ti kolobar v glavnem prilagodili zahtevam in ukrepom za preprečevanje širjenja koruznega hrošča;
- Večje težave z uvedbo ustreznega kolobarja so bile na novorazmejenih območjih, saj sprememba kolobarja in zagotavljanje krmne baze za živinorejo zahteva določen prilagoditveni čas;
- S pojavom koruznega hrošča in posledično uvedbo in nadzorom izvajanja ukrepov za preprečevanje širjenja tega škodljivca se je delež monokulture koruze na njivah zmanjšal, kar je pozitivno tako iz fitosanitarnega kot tudi drugih agronomskih vidikov.

5 LITERATURA

- Pravilnik 2006. Pravilnik o fitosanitarnih ukrepih za preprečevanje širjenja koruznega hrošča (Uradni list RS, št. 21/04, 106/06).
- Odločba komisije 2003. Odločba komisije (2003/766/ES) o nujnih ukrepih za preprečevanje širjenja koruznega hrošča *Diabrotica v. virgifera* LeConte v Skupnosti.
- Priporočilo komisije 2006. Priporočilo Komisije 2006/565/ES.
- FURS 2007. Zadrževalni program koruznega hrošča *Diabrotica v. virgifera* LeConte 2007-2008.

PREDSTAVITEV IZVAJANJA NADZORA ZDRAVSTVENEGA STANJA ZELENJADNIC IN REZULTATOV VZORČENJ NA ZASTOPANOST VIRUSOV

Radovan LIČEN¹, Katja ŠNAJDER KOSI², Andrej POTOČNIK³, Anita BENKO
BELOGLAVEC⁴, Maja RAVNIKAR⁵, Nataša MEHLE⁶

^{1,2,3,4}Ministrstvo za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano, Inšpektorat RS za kmetijstvo,
gozdarstvo in hrano, Fitosanitarna inšpekcija
^{5,6}Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana

IZVLEČEK

Fitosanitarna inšpekcija v okviru svojih nalog opravi vsako leto tudi nadzor zdravstvenega stanja sadik zelenjadnic in rastlin za pridelavo plodov vrtnin. Nadzor se izvaja pri registriranih pridelovalcih sadik vrtnin, ki pridelavo napovejo z letno prijavo pridelave, pri pridelovalcih plodov vrtnin ter v vrtnih centrih in distribucijskih skladiščih. Nadzor obsega redne obvezne preglede pri pridelovalcih, ki so vpisani v Fito/Seme Register ter preglede načrtovane v programih posebnih nadzorov in inšpekcijskega spremljanja zdravstvenega stanja rastlin. Podrobneje je predstavljen posebni nadzor virusa mozaika pepina (PepMV), ki ga v celoti opravi Fitosanitarna inšpekcija. Pri pregledih so odvzeti vzorci na zastopanost virusov. Vse vzorce analizira Nacionalni inštitut za biologijo. Predstavljeni so rezultati analiz za vzorčenja v obdobju 2003-2008.

Ključne besede: pregledi zdravstvenega stanja, zelenjadnice, vzorčenje

ABSTRACT

PRESENTATION OF PLANT HEALTH CHECKS OF VEGETABLES AND OF THE RESULTS OF SAMPLING ON THE PRESENCE OF VIRUSES

Within its duties, the Phytosanitary inspection conducts also plant health checks of vegetable plants for planting and plants for the production of vegetables. The regular inspection is carried out at producers of vegetable plants for planting who declare annual production, at producers of vegetables, in garden centres and distribution warehouses. The inspection consists of regular annual checks at producers which are entered in the register, and additional checks according to the National programs of special surveys and inspection monitoring of plant health. In this article, the special survey on Pepino mosaic virus is presented. The survey is carried out by the Phytosanitary inspection. It includes taking samples for testing on the presence of viruses which are analysed by the National Institute of Biology. In the article, the results of sampling from 2003 to 2008 are presented.

Key words: plant health checks, vegetables, sampling

¹ univ. dipl. inž. agr., Parmova 33, SI-1111 Ljubljana

² mag. agr. znan., prav tam

³ mag. agr. znan., prav tam

⁴ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁵ prof. dr., Večna pot 111, SI-1111 Ljubljana

⁶ mag. biol. znan., prav tam

1 UVOD

Ena od nalog Fitosanitarnе inšpekcije je ugotavljanje zdravstvenega stanja rastlin in preverjanje skladnosti zdravstvenega stanja z zahtevami v predpisih, ki urejajo pridelavo in trženje rastlinskega materiala. Fitosanitarna inšpekcija opravlja tudi preglede zdravstvenega stanja sadilnega materiala zelenjadnic. Te preglede lahko razdelimo v štiri skupine:

- Obvezni fitosanitarni pregledi pri registriranih imetnikih

To so pregledi pri pridelovalcih sadik zelenjadnic, ki pridelujejo sadike na pokritih površinah večjih od 100 m² in so zato zavezanci za vpis v Fito Register.

- Pregledi pri pridelovalcih, ki niso vpisani v Fito Register

To so pregledi pri manjših pridelovalcih sadik zelenjadnic, ki pridelujejo sadike zelenjadnic na pokritih površinah manjših od 100 m² in pridelane sadike prodajo samo na lokalnem trgu ter pregledi pri tržnih pridelovalcih vrtnin.

- Pregledi na trgu

To so pregledi v vrtnih centrih tj. specializiranih maloprodajnih trgovinah, kjer tržijo sadike zelenjadnic, v distribucijskih centrih, kjer večje pošiljke rastlin delijo na manjše in jih razpošiljajo po trgovinah ter zbirnih skladiščih, kjer odkupujejo vrtnine domače pridelave.

- Pregledi uvoznih pošiljk

Pregledi se opravljajo na predvidenih vstopnih mestih v državo.

Fitosanitarni inšpektorji se pri opravljanju naštetih pregledov srečujemo z rastlinami, ki so predmet raznih posebnih nadzorov, zato se že pri načrtovanju pregledov upoštevajo navodila iz programov posebnih nadzorov in se uskladi čas in obseg pregledov.

2 MATERIAL IN METODE

Pridelava sadik zelenjadnic in okrasnih rastlin je v Sloveniji zelo razdrobljena. Večina pridelovalcev ima zelo širok izbor rastlin, tako okrasnih kot zelenjadnic. V pomladanskem času se v rastlinjakih najprej odvija pridelava sadik okrasnih rastlin in zelenjadnic, nato pa od poletja do zime v istih rastlinjakih vzgajajo okrasne rastline v loncih ali rastline za rezano cvetje. Le malo je pridelovalcev, ki so specializirani in se ukvarjajo le z nekaterimi proizvodi. V večini primerov tako hkrati opravimo pregled okrasnih rastlin in zelenjadnic.

2.1 Načrtovanje pregledov

2.1.1 Obvezni fitosanitarni pregledi pri registriranih imetnikih

V Fito Register je vpisanih približno 200 pridelovalcev sadik zelenjadnic. Vsak pridelovalec iz Fito Registra je dolžan oddati letno prijavo pridelave, na osnovi katere fitosanitarni inšpektor opravi vsaj en pregled letno pri pridelovalcih, ki ne izdajajo rastlinskih potnih listov oziroma v vsakem pridelovalnem ciklusu pri pridelovalcih, ki izdajajo rastlinske potne liste. Večino pregledov opravimo v spomladanskem času, ko so v rastlinjakih sadike, pri nekaterih pridelovalcih pa opravimo ta pregled samo v jeseni.

2.1.2 Pregledi pri pridelovalcih, ki niso vpisani v Fito Register

Število in namen pregledov se določi na podlagi ocene tveganja oz. informacij zbranih v preteklih letih. Največkrat so ti pregledi načrtovani glede na naloge, ki so določene v letnih programih posebnih nadzorov in v smernicah za spremljanje zdravstvenega stanja rastlin.

2.1.3 Pregledi na trgu

Pogostnost pregledov in cilj ter namen teh pregledov je določena v letnem navodilu za izvajanje inšpekcijskih pregledov Fitosanitarnе inšpekcije. Pri pripravljanju tega navodila se

upoštevajo letni programi posebnih nadzorov in smernic za spremljanje zdravstvenega stanja rastlin tako, da se z enim pregledom zajame čimveč vsebin.

V primeru nepredvidljivih dogodkov, kot je npr. odkritje nadzorovanega škodljivega organizma, se te preglede načrtuje tudi med letom s posebnimi navodili.

2.1.4 Pregledi uvoznih pošiljk

Pregledi se vršijo glede na prijavo pošiljke. Za vsako pošiljko, ki vsebuje rastline ali rastlinske proizvode in za katero je predpisan fitosanitarni pregled pred vstopom v Skupnost, je uvoznik dolžan na Fitosanitarno inšpekcijo vložiti prijavo za uradni pregled. Uradni pregled opravi fitosanitarni inšpektor in vsebuje pregled listin, istovetnosti in zdravstvenega stanja.

2.1.5 Posebni nadzori

Posebni nadzori se izvajajo z namenom ugotavljanja navzočnosti, omejevanja širjenja ali potrditvijo območij z nizko stopnjo pojavljanja škodljivega organizma. Izvedba poteka po programih posebnih nadzorov, ki jih potrdi Fitosanitarna uprava. Za izvajanje posebnega nadzora je odgovoren koordinator, ki pripravi letni program, skrbi za izvajanje in ob koncu pripravi letno poročilo o izvajanju nadzora. Pri načrtovanju in izvajanju posebnih nadzorov sodelujejo Fitosanitarna uprava, pooblaščenice institucije, Fitosanitarna inšpekcija in pooblaščenice laboratoriji.

Pregled zelenjadnic je predviden v programih treh posebnih nadzorov, kjer je vključena tudi Fitosanitarna inšpekcija:

- Posebni nadzor virusa mozaika pepina (PepMV), ki je podrobneje opisan v naslednji točki (2.2);
- Posebni nadzor Potato spindle tuber viroid (PSTVd), kjer se preverja zdravstveno stanje sadik paradižnika in paprike ter rastlin za pridelavo plodov paradižnika in paprike. Pregledi se izvajajo v okviru obveznih fitosanitarnih pregledov pri registriranih imetnikih, pri tržnih pridelovalcih vrtnin, na trgu in v uvoznih pošiljkah.
- Posebni nadzor rjave in obročkaste gnilobe gomoljev krompirja, kjer se preverja zdravstveno stanje sadik in rastlin za pridelavo plodov paradižnika. Pregledi se izvajajo v okviru obveznih fitosanitarnih pregledov pri registriranih imetnikih, pregledi pri tržnih pridelovalcih vrtnin, pregledov na trgu in pregledov uvoznih pošiljk.

2.1.6 Spremljanje zdravstvenega stanja

Spremljanje zdravstvenega stanja zajema ugotavljanje stanja okuženosti oziroma napadenosti s škodljivimi organizmi, ki niso nadzorovani s posebnimi nadzori. Škodljivi organizmi, ki se jih nadzoruje v okviru spremljanja zdravstvenega stanja, so navedeni v smernicah za načrtovanje pregledov v programu Fitosanitarnе inšpekcije. V ta seznam so vključeni škodljivi organizmi, ki jih Fitosanitarna inšpekcija obravnava z namenom obvladovanja in vzpostavitve neokuženih mest pridelave ali so na Alert seznamu ter karantenskih seznamih Evropske in mediteranske organizacije za varstvo rastlin (EPPO), ali z namenom ugotavljanja njihove razširjenosti in vsi neznani škodljivi organizmi, ki se pojavljajo na trgu. V program spremljanja zdravstvenega stanja so vključene tudi virusne bolezni na zelenjadnicah.

2.2 Izvajanje posebnega nadzora virusa mozaika pepina (PepMV, ang. *Pepino mosaic*)

Posebni nadzor izvajamo od leta 2004, že v letu 2003 pa smo izvajali preglede v okviru spremljanja zdravstvenega stanja. Predmet pregleda posebnega nadzora je domača pridelava in uvozne pošiljke in sicer: seme in sadike paradižnika, plodovi in rastline za pridelavo plodov paradižnika. Seme paradižnika se vzorči in testira na latentno okužbo z virusom. Ob pregledu uvozne pošiljke se vzorči vsaka partija uvoženega semena, ob

vzorčenju semena za naknadno kontrolo pa se vsako leto vzorči tudi nekaj partij semena paradižnika, ki je namenjeno domačemu trgu. Zdravstveni pregled sadik paradižnika je opravljen v okviru obveznih fitosanitarnih pregledov pri registriranih imetnikih. Pregled temelji na vizualnem pregledu in iskanju morebitnih bolezenskih znamenj, ki jih povzroča PepMV. V prvih dveh letih posebnega nadzora so bili odvzeti vzorci sadik paradižnika, ki so bili testirani na latentno okužbo z virusom. Ker bolezenskih znamenj na sadilnem materialu ni oz. so na mladih rastlinah težje prepoznavna, je bil večji poudarek na iskanju bolezenskih znamenj v nasadih za pridelavo plodov, zato se s sadik paradižnika odvzamejo vzorci le z rastlin, ki kažejo bolezenska znamenja, ki ji povzročajo virusi. Pregledi in vzorčenja rastlin in plodov paradižnika se opravijo v okviru pregledov spremljanja zdravstvenega stanja. Tudi ti pregledi temeljijo na vizualnem pregledu in iskanju morebitnih bolezenskih znamenj, ki jih povzroča PepMV, če takih znamenj ni se vzorčijo rastline, ki kažejo znake okužb z virusi. Ti vzorci so testirani na vse nadzorovane viruse in tudi na PepMV. Okvirno število odvzetih vzorcev je opredeljeno v letnem programu nadzora. Plodove se vzorči le, če kažejo znake okužbe s PepMV.

2.3 Metode za ugotavljanje virusov na zelenjadnicah v laboratoriju

Laboratorijsko testiranje vzorcev na viruse se izvaja na Nacionalnem inštitutu za biologijo. Kot presejalni test se za večino virusov na zelenjadnicah uporablja serološki test ELISA, za nekatere viruse pa molekularne metode (PCR, RT-PCR, RT-PCR v realnem času). Sumljive in pozitivne rezultate presejalnih testov potrjujemo s testnimi rastlinami, elektronsko mikroskopijo ter molekularnimi testi, vključno z določanjem nukleotidnega zaporedja PCR produkta.

V vzorcih zelenjadnic z neznanimi znamenji virusne okužbe prisotnost virusov dokazujemo z elektronsko mikroskopijo in testnimi rastlinami.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Vsi vzorci zelenjadnic so bili testirani na izbrane nadzorovane viruse (viruse iz EPPO oziroma EU karantenskih seznamov, vključno z virusi iz EPPO Alert seznama). Pri nekaterih vzorcih so bile opravljene dodatne analize na nekatere druge gospodarsko pomembne viruse.

3.1 Rezultati vzorčenj na PepMV

V obdobju od 2004 do 2008 je bil na virus mozaika pepina testiran 401 vzorec paradižnika (Preglednica 1). V nobenem od vzorcev, ki so bili testirani na PepMV, ta virus ni bil dokazan.

Preglednica 1: Število odvzetih vzorcev za testiranje na PepMV

Figure 1: Number of samples taken for testing on PePMV

Število vzorcev	2004	2005	2006	2007	2008
Sadike paradižnika	35	50	7	13	7
Rastline za pridelavo plodov in plodovi paradižnika	72	44	30	43	40
Seme paradižnika	0	2	30	23	5
Skupaj	107	96	67	79	52

Pri pregledih rastlin paradižnika niso bila opažena značilna bolezenska znamenja, ki jih povzroča virus PepMV, zato so bile na ta virus testirane rastline, ki so kazale splošne znake okužbe z virusi. Glede na rezultate pregledov in opravljenih analiz lahko trdimo, da virusa v Sloveniji še ni, njegova navzočnost je dokazana že v večini držav Evropske unije in je zato nevarnost za prenos okužbe zelo velika. Virus se izredno hitro prenaša mehansko z rastlinskimi sokovi, saj omogočajo prenos vsi stiki z rastlino: okuženo orodje in pribor, roke, obleka, neposreden stik, odpadki okuženih rastlin, vegetativno razmnoževanje in cepljenje okuženih rastlin. Za preprečitev širjenja virusa je pomembno, da odkrijemo okužbo, ko je še omejena in da čim hitreje ukrepamo. Zato se bo nadzor izvajal tudi v bodoče.

3.2 Rezultati vzorčenj zelenjadnic na viruse

Pri pregledu pridelave sadik zelenjadnic rastline še ne kažejo znakov okužb z virusi, zato je bila večina vzorcev odvzetih z odraslih rastlin. Pregledi fitosanitarnih inšpektorjev so osredotočeni na pridelavo v zavarovanih prostorih, zato so največkrat vzorčene rastline, ki se tam najpogosteje gojijo. Število odvzetih vzorcev po posameznih rastlinah, v obdobju 2003 do 2008, je prikazano v Preglednici 2.

Preglednica 2: Število odvzetih vzorcev v letih 2003-2008

Figure 2: Number of samples taken in 2003-2008

vzorčena rastlina	število vzorcev
Paradižnik (brez semena)	380
paprika	73
bučnice	16
dišavnice	3
radič	1

Vzorci odvzeti s paradižnika so bili načrtovani v vsakoletnem programu posebnega nadzora, zato je teh vzorcev največ.

Rezultati vzorčenj oz. potrjeni virusi na vzorčenih zelenjadnicah v leti 2003-2008 so prikazani v Preglednici 3. V tem obdobju smo na zelenjadnicah dokazali okužbo z virusom pegavosti in uvelosti paradižnika iz EU karantenskega seznama II A 2 ter okužbe z nekaterimi drugimi gospodarsko pomembnimi virusi: krompirjev virus Y (PVY), virus mozaika kumar (CMV), virus mozaika paradižnika (ToMV), virus rumenega mozaika bučk (ZYMV) in virus mozaika lubenic 2 (WMV 2). Leta 2003 je bil na rastlini paradižnika odkrit, v Sloveniji prvič opisan, rabdovirus EMDV (virus lisavosti in pritlikavosti jajčevcev), v letu 2006 pa na rastlinah paprike virus ovenelosti boba 1 (BBWV 1) (Mavrič in sod., 2006; Mehle in sod., 2008). V nekaterih vzorcih paradižnika in paprike smo z elektronsko mikroskopijo našli izometrične virusne delce, ki jih nismo uspeli natančneje diagnosticirati.

V nobenem izmed analiziranih vzorcev zelenjadnic do sedaj še nismo dokazali okužbe s sledečimi virusi iz karantenskih seznamov oziroma iz EPPO Alert seznama: virusi rumenega zvijanja listov paradižnika (TYLC virusi), virus nalezljive bledičnosti paradižnika (TICV), virus klorotičnosti paradižnika (ToCV), virus obročkaste pegavosti paradižnika (ToRSV) in virus obročkaste pegavosti tobaka (TRSV) (podatki niso prikazani).

Preglednica 3: Rezultati testiranja na viruse v letih 2003-2008
 Figure 3: Results of testing for viruses in 2003-2008

virus	vzorčena rastlina	št. pozitivnih vzorcev
PVY (<i>Potato virus Y</i>)	paprika	8
	paradižnik	13
CMV (<i>Cucumber mosaic virus</i>)	paprika	10
	paradižnik	2
	bučnice	2
ZYMV (<i>Zucchini yellow mosaic virus</i>)	bučnice	2
WMV-2 (<i>Watermelon mosaic virus 2</i>)	bučnice	2
TSWV (<i>Tomato spotted wilt virus</i>)	paradižnik	6
ToMV (<i>Tomato mosaic virus</i>)	paradižnik	3
BBWV-1 (<i>Broad bean wilt virus 1</i>)	paprika	13
Izometrični virusi	paradižnik	3
	paprika	2
EMDV (<i>Eggplant mottled dwarf virus</i>)	paradižnik	2

4 SKLEPI

Namen članka je predstaviti prispevek Fitosanitarne inšpekcije k splošni sliki o zdravstvenem stanju zelenjadnic v Sloveniji. Glede na rezultate sistematičnega nadzora lahko podamo izjavo, da PePMV pri nas še ni, kar je potrjeno s sistematičnim nadzorom.

5 LITERATURA

Letni program posebnega nadzora Pepino mosaic virus.

Letni program posebna nadzora PSTVd (Potato spindle tuber viroid).

Letni program posebnega nadzora krompirjeve rjave in obročkaste gnilobe.

Podatki iz aplikacije FSI Pregled.

Smernice za načrtovanje pregledov v enotah FSI.

Mavrič, I., Tušek-Žnidarič, M., Viršček Marn, M., Dolničar, P., Mehle, N., Lesemann, DE, Ravnikar, M. 2006. First report of Eggplant mottled dwarf virus in potato and tomato in Slovenia. *Plant Pathol.*, 55, 4: 566.

Mehle, Nataša, Tušek-Žnidarič, Magda, Tornos, T., Ravnikar, M. 2008. First report of broad bean with virus 1 in Slovenia. *Plant Pathol.*, 57: 395.

Ravnikar in sod. 2004-2009. Programi strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin : končna poročila o opravljenem delu na strokovni nalogi : diagnosticiranje bakterijskih in virusnih bolezni: za leta 2003-2008. Ljubljana: Nacionalni inštitut za biologijo.

POSEBNI NADZOR KROMPIRJEVIH OGORČIC *Globodera rostochiensis* IN *G. pallida* IN FITOSANITARNI UKREPI

Andrej POTOČNIK¹, Joži Jerman CVELBAR², Gregor UREK³, Saša ŠIRCA⁴

^{1,2}Ministrstvo za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano, Inšpektorat RS za kmetijstvo, gozdarstvo
in hrano, Fitosanitarna inšpekcija

^{3,4}Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

IZVLEČEK

Krompirjeve ogorčice sistematično raziskujemo v Sloveniji že od leta 1963. Prva najdba rumene krompirjeve ogorčice *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens sega v leto 1971. Ugotovljena je bila v okolici Dobrove pri Dravogradu. Novih najdb vse do leta 1999, ko je bila ista vrsta ugotovljena v Libeličah na Koroškem, ni bilo. Sledile so najdbe na Gorenjskem in v Čepovanu, ki so omejene na posamezne njive. V Trenti in njeni okolici je bilo leta 2004 ugotovljeno širše napadeno območje. Drugod najdb ni bilo. Z odločbo Fitosanitarnе uprave, izdane na podlagi rezultatov posebnega nadzora krompirjevih ogorčic, je trenutno razmejenih 7 manjših žarišč *G. rostochiensis* z ustreznim varnostnim območjem in območje njene ustalitse, ki v Zgornjem Posočju obsega 9 katastrskih občin. Na območju Dobrove pri Dravogradu se ta škodljivi organizem obravnava kot izkoreninjen. Enako obravnavanje se pričakuje tudi za Libeliče. Fitosanitarni ukrepi, ki temeljijo na omejevanju sajenja gostiteljskih rastlin oziroma ustreznem kolobarju in sajenju odpornih sort krompirja, se glede na njihov namen in cilje razvrščajo v 3 skupine in sicer ukrepi za eradikacijo škodljivega organizma, ukrepi za preprečevanje širjenja in zmanjševanja njihove populacije in ukrepi zatiranja na območju, kjer eradikacija ni mogoča in se je škodljiv organizem že ustalil. Bela krompirjeva ogorčica *Globodera pallida* (Stone) Behrens v obdelovalnih tleh v Sloveniji še ni bila ugotovljena, bila pa je nekajkrat prestežena med leti 2000 in 2003 pri nadzoru uvoza jedilnega krompirja na meji z Italijo. Ker vrsta *G. pallida* v obdelovalnih tleh v Sloveniji kljub intenzivnemu sistematičnemu nadzoru še ni bila ugotovljena, je celotno območje Slovenije glede tega škodljivega organizma razglašeno kot varovano območje.

Ključne besede: *Globodera*, razširjenost, posebni nadzor, fitosanitarni ukrepi

ABSTRACT

SPECIAL SURVEY OF POTATO CYST NEMATODES *Globodera rostochiensis* AND *G. pallida* AND PHYTOSANITARY MEASURES

In Slovenia, potato cyst nematodes have been the subject to survey since 1963. Yellow potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens was first found in 1971 at Dobrova near Dravograd. There were no new findings until 1999 when the same species was determined in Libeliče at Koroška. After that, several findings followed. At Gorenjska and in Čepovan, these were limited only to individual fields; however, in Trenta and the surroundings a wider area was attacked. All other areas were found free from the pest. According to the decision of the Phytosanitary Administration, 7 smaller foci with the appropriate buffer zones were delimited in relation to the found *G. rostochiensis*, as well as

¹ mag., Zg. Brnik 130/E, SI-4210 Brnik - Aerodrom

² univ. dipl. inž. agr., Parmova 33, SI-1000 Ljubljana

³ doc. dr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

⁴ dr., prav tam

the area of its establishment, which includes 9 cadastral communities of Zgornje Posočje. In the area of Dobrova near Dravograd, this pest is considered as eradicated. The same is expected also for Libeliče. Phytosanitary measures which are based on the restriction of cultivation of host plants, or an appropriate crop rotation and planting of resistant potato varieties, are classified according to their purpose and aims into 3 groups: 1 - Measures for eradication, 2 - Protective measures with regard to the spread of *G. rostochiensis* and measures for decreasing their population, 3 - Suppression – measures on the infested area declared as a special regulated area where *G. rostochiensis* is established and eradication is not possible. White potato cyst nematode *Globodera pallida* (Stone) Behrens has not yet been found in the arable land. Between 2000 and 2003, it was several times intercepted during control of the imported ware potato at the borders with Italy. Since the occurrence of *G. pallida* despite of intensive survey has not yet been determined, the area of the whole Slovenia is recognized as protected zone in respect of this harmful organism.

Key words: *Globodera*, distribution, survey, phytosanitary measures

1 UVOD

Rumena krompirjeva ogorčica *Globodera rostochiensis* in bela krompirjeva ogorčica *G. pallida* sta v svetu že dolgo znani škodljivi vrsti. Začetki njunega posebnega nadzora pri nas segajo v leto 1963. Takrat so strokovnjaki Kmetijskega inštituta Slovenije začeli sistematično in načrtno jemati vzorce tal, jih pregledovati in ugotavljati morebitno zastopanost in razširjenost krompirjevih ogorčic v naših tleh. Po letu 2000 se je Kmetijskemu inštitutu Slovenije pridružila še Fitosanitarna inšpekcija in vzpostavljen je bil posebni nadzor nad krompirjevimi ogorčicami, ki se izvaja v okviru strokovnih nalog Fitosanitarne uprave RS. Inšpektorji so pri pregledih uvoznih pošiljk začeli jemati vzorce zemlje, ki se je držala krompirjevih gomoljev in vzorce rastnih substratov, ki so jih uvažali vrtnarji. Fitosanitarna inšpekcija se je po letu 2003 pridružila Kmetijskemu inštitutu tudi pri vzorčenju pridelovalnih tal jedilnega krompirja, sadilnega materiala sadnih in okrasnih rastlin ter vinske trte. Krompirjeve ogorčice danes nadziramo na vseh mestih, kjer obstaja tveganje za navzočnost in širjenje teh škodljivih organizmov. Posebni nadzor se izvaja na temelju letnih programov dela, ki jih sprejme Fitosanitarna uprava RS. Z letnimi programi se podrobneje opredeli način dela oziroma nadzor pridelave, premeščanja in uvoza semenskega in jedilnega krompirja, nadzor v pakirnicah in pri distributerjih rastnih substratov in na mestih pridelave sadilnega materiala sadnih in okrasnih rastlin ter vinske trte.

V Sloveniji je bila v okviru posebnega nadzora do danes ugotovljena razširjenost rumene krompirjeve ogorčice *G. rostochiensis*, vrsta *G. pallida* pa v naših obdelovalnih tleh še ni bila ugotovljena (Urek in Lapanje, 2001; Širca in Urek, 2004; Širca in Urek, 2005). Celotno ozemlje Slovenije je bilo zato glede bele krompirjeve ogorčice razglašeno kot varovano območje. Pri premeščanju krompirja iz drugih držav EU v Slovenijo se zato zahteva izpolnjevanje strožjih zahtev kot za premeščanje v območja, ki niso razglašena kot varovana. Veljavnost razglasitve varovanega območja se podaljšuje na temelju rezultatov posebnega nadzora. S tem je izvajanje posebnega nadzora dobilo še dodaten pomen.

2 MATERIAL IN METODE

Temelji za izvajanje posebnega nadzora nad krompirjevimi ogorčicami in za fitosanitarne ukrepe so določeni v nacionalni in evropski zakonodaji. Podrobnejši postopki in ukrepi so opredeljeni v nacionalnih podzakonskih predpisih, v Odredbi o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranja krompirjevega raka (*Synchytrium endobioticum*) (Schilb.) Perc.) in krompirjevih ogorčic (*Globodera rostochiensis* Woll. in *Globodera pallida* Stone) (Uradni list RS, št. 51/1998) in Odločbi o razmejitvi območij napada in ukrepih za zatiranje rumenih

krompirjevih ogorčic (*Globodera rostochiensis* Woll.) (Uradni list RS, št. 86/2004 in spletna stran <http://www.furs.si>, večkrat spremenjena, nazadnje 15.7.2008), ter v Direktivi sveta o obvladovanju rumene krompirjeve ogorčice (69/465/EGS) in Direktivi sveta o obvladovanju krompirjevih ogorčic in razveljavitvi Direktive 69/465/EGS (Direktiva 2007/33/ES), ki se mora uveljaviti in uporabljati od 1. julija 2010.

Vrsti *G. rostochiensis* in *G. pallida* zajedata okoli 90 vrst gostiteljskih rastlin rodu razhudnikov (*Solanum*). Uvrščamo ju med najnevarnejše škodljivce krompirja. V naših podnebnih razmerah sta lahko pomembni gostiteljski rastlini še paradižnik in jajčevac. Ogorčici pa lahko napadeta tudi nekatere plevelce: grenkoslad (*S. dulcamara* L.), pasje zelišče (*S. nigrum* L.) in v manjši meri tudi zobnik (*Hyoscyamus niger* L.). V okviru njenega posebnega nadzora se kot gostiteljska rastlina neposredno pregleduje samo krompir oziroma njegovo pridelovanje, zastopanost krompirjevih ogorčic pa se posredno preverja tudi na drugih rastiščih in pri drugih gostiteljskih rastlinah. Pregleduje se jih v okviru ostalih zdravstvenih pregledov in posebnih nadzorov drugih škodljivih organizmov. Znamenja napadenosti pri krompirju med rastjo navadno opazimo šele po nekaj letih njihove zastopanosti, saj populacija ostaja dolgo pod mejo detekcije. Osnova posebnega nadzora krompirjevih ogorčic je zato sistematično in načrtno vzorčenje zemlje.

Pri sedaj uveljavljenem pridelovanju krompirja v Sloveniji je izhodišče za odvzem enega vzorca tal 0,5 ha veliko krompirišče. En vzorec je sestavljen iz 50 podvorcev, to je z zemljo, ki se zbere s 50 vbodi s posebno nematološko sondo do globine od 10 do 12 cm. Povprečni vzorec tehta 750 g. Pri pridelovanju semenskega krompirja vzorce jemljemo pred saditvijo, pri jedilnem pa po izkopu krompirja in praviloma pred naslednjim oranjem. Enako izhodišče je v veljavi tudi pri vzorčenju tal na mestih pridelave sadilnega materiala sadnih in okrasnih rastlin ter vinske trte. Povprečna velikost odvzetega vzorca je pri vzorčenju zemlje in rastnih substratov v pakirnicah in pri njihovih distributerjih prav tako 750 g. Pri vzorčenju talnih delcev, ki se držijo gomoljev krompirja v skladiščih ali med prevozom na prevoznih sredstvih pa se odvzame najmanj 500 g talne gmote.

Analize vzorcev opravljamo v pooblaščenem nematološkem laboratoriju Kmetijskega inštituta Slovenije z metodo ločevanja organske mase (Urek in Širca, 2003). Diagnostični postopki temeljijo na morfoloških analizah, po potrebi se opravijo tudi analize na temelju molekularnih tehnik (Širca in Urek, 2004; Bačić in sod., 2008).

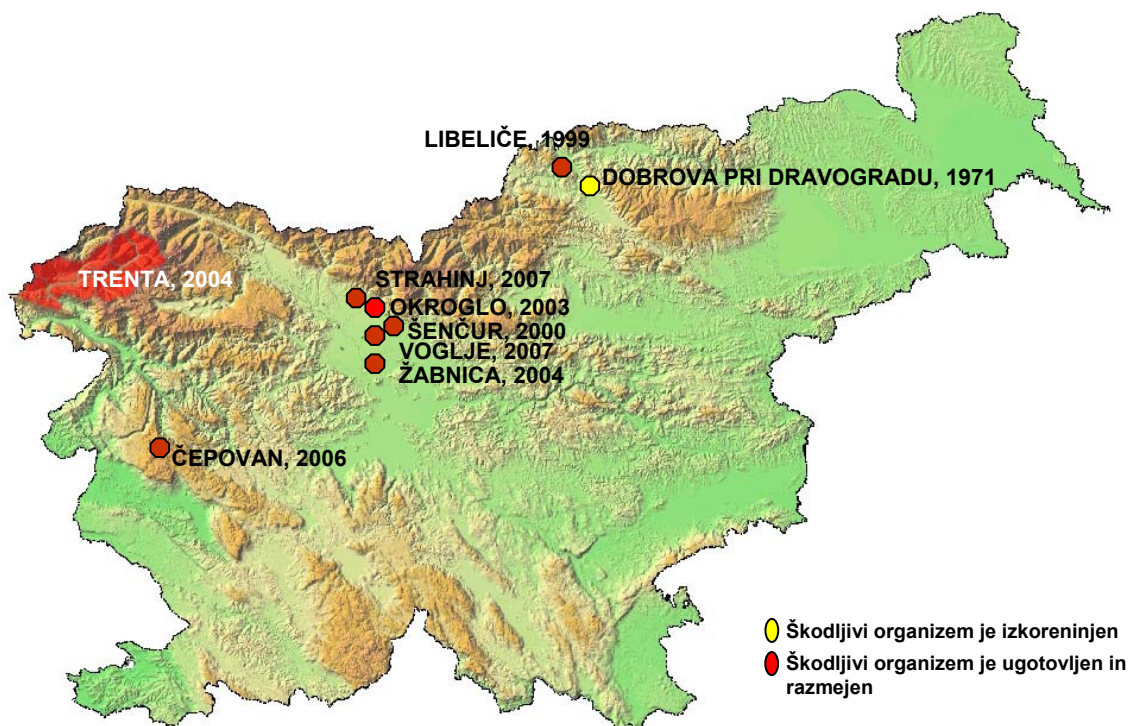
Po ugotovitvi krompirjevih ogorčic v tleh se zaradi razmejitve napadenega območja, to je žarišča napada in njegovega varnostnega območja, odvzamejo vzorci tudi na vseh sosednjih obdelovalnih zemljiščih in na vseh ostalih obdelovalnih zemljiščih, ki jih ima imetnik poleg tistega, ki je bil ugotovljen kot napaden. Preverjajo se še vse druge morebitne povezanosti z drugimi pridelovalci kot je npr. skupna uporaba strojev.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V zadnjem obdobju je bilo letno odvzetih okoli 600 vzorcev. Več kot 400 jih je bilo odvzetih pri pridelovanju krompirja, okoli 100 je bilo odvzetih na mestih pridelave sadilnega materiala sadnih in okrasnih rastlin ter vinske trte in okoli 30 v pakirnicah in pri distributerjih zemlje in rastnih substratov. Po pridružitvi Slovenije EU leta 2004 je uvoz krompirja postal zelo omejen in neposrednega uvoza iz tretjih držav tako rekoč ni več. Pred tem so bile pri fitosanitarnem nadzoru pri uvozu na državni meji z Italijo leta 2000 in 2002 ugotovljene po ena in leta 2003 kar tri pošiljke jedilnega krompirja napadene z vrsto *G. pallida*. Leta 2003 so bile tri pošiljke, prav tako na državni meji z Italijo, ugotovljene kot napadene z vrsto *G. rostochiensis*. Vse napadene pošiljke so bile bodisi vrnjene pošiljatelju ali uničene z globokim zakopom. Leta 2001 je bil tudi prepovedan uvoz dveh pošiljk jedilnega krompirja, ker je bil delež spremljajoče zemlje večji od 1 utežnega odstotka tal. Vrsta *G. rostochiensis* je bila prav tako ugotovljena pri posameznih uvoznih pošiljkah jedilnega krompirja leta 2002 na državni meji s Hrvaško.

Krompirjevih ogorčic v vzorcih tal, ki so bili odvzeti na mestih pridelave sadilnega materiala sadnih in okrasnih rastlin ter vinske trte in pri vzorčenju tal in rastnih substratov v pakirnicah in pri njihovih distributerjih še nismo ugotovili. V okviru nadzora zemljišč na katerih pridelujejo krompir pa smo večkrat naleteli na vrsto *G. rostochiensis* (slika 1 in preglednica 1). Vrste *G. pallida* pa pri pridelovanju te poljščine kljub intenzivnemu nadzoru še nismo ugotovili.

Vrsta *G. rostochiensis* je bila prvič najdena leta 1971 v okolici Dobrove pri Dravogradu. Naslednjič je bila ugotovljena po daljšem presledku. Najdena je bila leta 1999 v Libeličah na Koroškem (Urek in Lapanje, 2001). Izolirana je bila iz zemljišča, kjer so pridelovali semenski krompir. Leto dni kasneje, t.j. leta 2000 pa smo na vrsto *G. rostochiensis* naleteli tudi v tleh v objektih pri pridelovanju semenskega krompirja v Šenčurju na Gorenjskem. Pri nadzoru pridelave jedilnega krompirja smo leta 2004 iz njive v Žabnici na Sorškem polju izločili večje število čist rumene krompirjeve ogorčice (Širca in Urek, 2005), leta 2007 pa iz njiv v Strahinju pri Naklem in v okolici Vogelj na Gorenjskem. Na vrsto *G. rostochiensis* smo pri pridelovanju jedilnega krompirja naleteli leta 2003 tudi v okolici Kranja (Okroglo), Čepovana na Primorskem in v Zgornjem Posočju v Trenti in njeni okolici. V zadnjih treh primerih zaradi šibke moči napada ali manjšega gospodarskega pomena pridelovanja krompirja ne gre za nevarnost pojava gospodarske škode večjih razsežnosti. Ugotovitev rumene krompirjeve ogorčice v Trenti, kjer se krompir prideluje v težkih podnebni razmerah le za samooskrbo, je značilen primer posledice zelo ozkega kolobarja oziroma sploh brez njega na določenem širšem območju.



Slika 1: Rumena krompirjeva ogorčica *G. rostochiensis* - kraji in leta ugotovitev

Na temelju rezultatov ugotavljanja krompirjevih ogorčic se v primeru ugotovitve napada razglasi napadeno in varnostno območje. Fitosanitarna inšpekcija posameznim imetnikom znotraj razmejenega območja odredi posebne fitosanitarne ukrepe. Zaradi ugotovitve napada z vrsto *G. rostochiensis* je trenutno opredeljenih 7 razmejenih območij. Vsa so manjša, omejena le na nekaj manjših njiv. Opredeljeno je bilo tudi eno širše območje zaradi ustalitve rumene

ogorčice, in sicer v Zgornjem Posočju; obsega 9 katastrskih občin. Na območju Dobrove pri Dravogradu vrsto *G. rostochiensis*, ki je bila v Sloveniji najdena prvič (1971), na temelju rezultatov posebnega nadzora štejemo kot izkoreninjeno. Enako se pričakuje tudi za območje Libelič.

Fitosanitarni ukrepi se glede na njihov namen in cilje razvrščajo v 3 skupine:

- Ukrepi za izkoreninjenje (eradikacijo) škodljivega organizma vključujejo najstrožje ukrepe, ki za določeno dobo prepovedujejo obdelovanje zemlje in zahtevajo vzpostavitev travnika. Odrejeni so bili po ugotovitvi napada pri pridelovanju semenskega krompirja v Libeličah leta 1999 in Šenčurju leta 2000.

- Ukrepi za preprečevanje širjenja in zmanjševanja populacije škodljivega organizma so blažji. Dovoljujejo obdelovanje zemlje, toda za določeno dobo omejujejo pridelovanje krompirja in zahtevajo sajenje odpornih sort. Odrejeni so bili po ugotovitvah napada pri pridelovanju jedilnega krompirja.

- Ukrepi zatiranja na območju, kjer izkoreninjenje ni mogoče in se je škodljiv organizem že ustalil, so najmilejši. Temeljijo, podobno kot ukrepi iz prejšnje skupine, na omejevanju pridelovanja krompirja, upoštevanju kolobarja in sajenju odpornih sort. Izrečeni so bili na celotnem širšem območju v Zgornjem Posočju.

Preglednica 1: Podatki o ugotovitvah rumene krompirjeve ogorčice *G. rostochiensis* pri domačem pridelovanju krompirja

Leto	Kraj	Število njiv	Skupna velikost (ha)	Namen pridelovanja
1971	Dobrova pri Dravogradu	majhno	majhno	izkoreninjeno
1999	Libeliče	2	5,60	seme
2000	Šenčur	4	0,13	seme
2003	Kranj	1	1,50	jedilni
2004	Žabnica Trenta	4 39	3,61 ≈0,15 (povp. velikost njive)	jedilni jedilni
2006	Čepovan	2	0,30	jedilni
2007	Strahinj Voglje	2 1	4,93 0,64	jedilni jedilni

4 SKLEPI

V zadnjem desetletju je bila od krompirjevih ogorčic v okviru posebnega nadzora, predvsem zemljišč, na katerih se je prideloval krompir, najpogosteje jedilni, ugotovljena le vrsta *G. rostochiensis*. Njena razširjenost je vedno zelo omejena, le na posamezne njive in ni endemična. Glede na to, da so krompirjeve ogorčice za pridelavo krompirja izjemno nevarne jih moramo še naprej pozorno spremljati in v primeru najdb tudi ustrezno ukrepati. Cilj sprejetih fitosanitarnih ukrepov pa se je ob njenih najdbah v zadnjih letih pri pridelovanju jedilnega krompirja začel spreminjati. Bolj kot ukrepi s ciljem njenega izkoreninjanja, so se začeli odrejati in izvajati ukrepi za preprečevanje širjenja in zmanjševanja njene populacije. Pri tem imata odločilen pomen upoštevanje ustreznega kolobarja in sajenje sort krompirja, ki so odporne na biološke rase ogorčic, ki so bile ugotovljene v posameznih primerih in na določenih območjih. Za učinkovito preprečevanje širjenja in zmanjševanje populacije krompirjevih ogorčic bo v prihodnosti pridelovanje odpornih sort, podrobnejše določanje in poznavanje bioloških ras ugotovljenih ogorčic in upoštevanje kolobarja pridobilo večji pomen in veljavo.

5 LITERATURA

- Bačić, J., Gerič Stare, B., Širca, S., Urek, G. 2008. Analyses of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* populations from Serbia by morphometrics and real-time PCR. *Russian journal of nematology*, 16, 1: 61-63.
- Širca, S., Urek, G. 2004. Morphometrical and ribosomal DNA sequence analysis of *Globodera rostochiensis* and *Globodera achilleae* from Slovenia. *Russian journal of nematology*, 12, 2: 161-168.
- Širca, S., Urek, G. 2005. Rezultati preučevanja rumene krompirjeve ogorčice *G. rostochiensis* Woll.(Behrens) v Sloveniji. V: VAJS, Stanislav (ur.), LEŠNIK, Mario (ur.), MAČEK, Jože (ur.). 7. slovensko posvetovanje o varstvu rastlin, 8.-10. marec 2005, Zreče, Slovenija. *Izvillečki referatov*. [Ljubljana]: Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 119-120.
- Urek, G., Lapajne, S. 2001 The incidence of potato nematode, *Globodera rostochiensis* (Woll., 1923) Behrens, 1975, in Slovenia. *Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljubl., Kmet. (1990)*, 77(1): 49-58.
- Urek, G., Širca, S. 2003. Efficiency of the system of nematode cyst extraction from soil samples used in Slovenia. *Acta phytopathol. entomol. Hung.*, 38(1/2): 209-215.
- Odredba. 1998. Odredba o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranja krompirjevega raka (*Synchytrium endobioticum*) (Schilb.) Perc.) in krompirjevih ogorčic (*Globodera rostochiensis* Woll. in *Globodera pallida* Stone) (Uradni list RS, št. 51/1998).
- Odločba. 2004. Odločba o razmejitvi območij napada in ukrepih za zatiranje rumenih krompirjevih ogorčic (*Globodera rostochiensis* Woll.) (Uradni list RS, št. 86/2004 in spletna stran <http://www.furs.si>).
- Seznam. 2005. Seznam sort krompirja, ki so odporne proti krompirjevemu raku in krompirjevim ogorčicam in imajo dovoljenje za trgovanje v Republiki Sloveniji (Uradni list RS, št. 38/2005).
- Direktiva Sveta. 1969. Direktiva Sveta 69/465/EGS, z dne 8. decembra 1969, o obvladovanju rumene krompirjeve ogorčice (UL L 323, 24.12.1969).
- Direktiva Sveta. 2007. Direktiva sveta 2007/33/ES, z dne 11. junija 2007, o obvladovanju krompirjevih ogorčic in razveljavitvi Direktive 69/465/EGS (UL L 156, 16.6.2007).

PRIDELAVA SADIK RASTLIN, GOSTITELJIC HRUŠEVEGA OŽIGA, NA NEVTRALNIH OBMOČJIH

Joži JERMAN CVELBAR¹, Andrej POTOČNIK², Milan LUKMAN³, Anita BENKO BELOGLAVEC⁴, Bojan BERDEN⁵, Radovan LIČEN⁶, Primož PAJK⁷

^{1,2,3,4,5,6}Ministrstvo za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano, Inšpektorat RS za kmetijstvo, gozdarstvo in hrano, Fitosanitarna inšpekcija

⁷Ministrstvo za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano, Fitosanitarna uprava Republike Slovenije

IZVLEČEK

Posebni nadzor hruševega ožiga, ki ga povzroča bakterija *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.*, je slovenska uradna služba za varstvo rastlin začela izvajati leta 1998. Prvič je bila bakterija ugotovljena leta 2001 v Naklem, potem pa beležimo še dva velika izbruha v letih 2003 in 2007. Izsledki nadzora v obdobju 2003-2008, so bili ključni za trenutno razmejitev v skladu z nacionalnim predpisom in Uredbo Komisije št. 690/2008. Z namenom preprečevanja širjenja bakterijske bolezni, varstva nasadov in pridelave rastlin za saditev, je Slovenija pridobila status varovanega območja za hrušev ožig, ki razen za gorenjsko, koroško, mariborsko in notranjsko regijo, velja do 31. marca 2010. V varovano območje se lahko premeščajo le rastline, ki so bile pridelane v enakih razmerah na varovanih območjih druge države članice ali na nevtralnih območjih, ki so pod posebej predpisanimi pogoji vzpostavljena znotraj okuženega oziroma ustaljenega območja. Bolezen se je v letih 2003-2008 razširila in se ustalila na Gorenjskem, na območju Maribora, na Koroškem in na Notranjskem. V letu 2003 so bile okužbe prvič ugotovljene tudi v varovalnih pasovih mest za pridelavo rastlin za saditev na Gorenjskem, kjer sta bili že v letu 2004 vzpostavljeni prvi dve nevtralni območji, Sorško polje in Volčji potok (Arboretum), v letu 2008 pa še nevtralno območje Selo v Prekmurju. Nevtralna območja določi Fitosanitarna uprava z odločbo in sicer na predlog imetnikov rastlin ali njihovega združenja ali po uradni dolžnosti v skladu s pogoji, ki so opredeljeni v pravilniku o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranje hruševega ožiga. Izpolnjevanje pogojev preverja uradna služba. Pri vzpostavitvi in vzdrževanju nevtralnega območja se upošteva ekonomski interes pridelovalca, podatke o navzočnosti in eradikaciji hruševega ožiga v nevtralnem območju, stroške vzpostavitve oziroma vzdrževanja območja (uradni pregledi, vzorčenja in izrekanje ukrepov), tržno vrednost predvidoma pridelanih gostiteljskih rastlin za saditev, poleg tega pa tudi okoljske in sociološke vidike. Glede na skupni trg Evropske unije s prostim pretokom blaga in širitev hruševega ožiga se torej zastavlja vprašanje kje je možno, smiselno in upravičeno vzpostavljati nove oziroma vzdrževati že določenih nevtralnih območij.

Ključne besede: hrušev ožig, varovano območje, nevtralno območje

ABSTRACT

¹ univ. dipl. inž. agr., Parmova 33, SI-1000 Ljubljana

² mag. agr. znan., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁵ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁶ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁷ univ. dipl. inž. agr., Einspielerjeva 6, SI-1000 Ljubljana

PRODUCTION OF HOST PLANTS OF FIRE BLIGHT INTENDED FOR PLANTING IN BUFFER ZONES

In 1998, the Slovenian National Plant Protection Organisation implemented a survey of fire blight caused by *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.*, which was first detected in 2001 in Naklo. This was followed by two larger outbreaks in 2003 and in 2007. Findings of the survey in the period from 2003 to 2008 were crucial for the existing demarcation of specific areas in compliance with the national legislation and Commission Regulation No 690/2008.

To prevent the spread of the bacterial disease, and to protect orchards and the production of plants for planting, the Republic of Slovenia was recognised as a Protected Zone for fire blight which is valid, except for Gorenjska, Mariborska and Notranjska regions, until 31 March 2010. Only the plants which were produced under the same conditions in protected zones of other member states, or in the buffer zones which are established under specific conditions within the infected or established region, are allowed to be moved to the protected zone for fire blight in Slovenia. From 2003 to 2007, the disease spread and settled down in Gorenjska, Koroška, Notranjska and Maribor region. In 2003, infections in the near vicinity of production areas of host plants of fire blight intended for planting were detected for the first time in the Gorenjska region, where the first two buffer zones were established: Sorško polje and Volčji potok (Arboretum). In 2008, a new buffer zone was established in Selo in the Prekmurje region. Buffer zones are established by the Phytosanitary Administration at the request of producers of the plants or their associations, or *ex officio*, under the conditions laid down in the Rules on measures for the prevention of spread and suppression of fire blight. Compliance with the requirements is checked by the official service. In the establishment and maintenance of buffer zones, several factors are taken into account: economic interest of the producer; data on the presence and eradication of *Erwinia amylovora* in the buffer zone and its surrounding; the costs of establishment and maintenance of the area (official inspection, sampling and ordering measures); market value of the host plants for planting that are expected to be produced; and environmental aspects and social dimensions.

Regarding the common EU market with free movement of goods, and the spread of fire blight, it should be considered where the establishment of new, or maintenance of the established buffer zones would be possible, appropriate and reasonable.

Key words: fire blight, protected zone, buffer zone

1 UVOD

Prvi zapis o pojavu hruševega ožiga sega v 16. stoletje, ko so ga našli na ozemlju današnjih Združenih držav Amerike, kjer se je razširil in postal endemičen v prvi polovici 20. stoletja. V Evropi se je pojavil šele leta 1957, in sicer v Veliki Britaniji. Iz Velike Britanije je bakterija *Erwinia amylovora* leta 1966, ko je bila prvič odkrita na Nizozemskem in na Poljskem, prešla na celino. V Evropi je bakterija naletela na ugodne razmere, tako da se je v naslednjih letih hitro razširila v skoraj vse evropske države. Leta prvega pojava v državah, ki mejijo na Slovenijo so, kot sledi: Italija 1990, Avstrija 1993, Hrvaška 1995, Madžarska 1995.

Glede na navedene podatke in nevarnost vnosa tega škodljivega organizma v Slovenijo, je bil leta 1998 uveden sistematični nadzor za ugotavljanje odsotnosti oziroma navzočnosti hruševega ožiga. Prvič je bila bakterija ugotovljena leta 2001 v Naklem, potem pa beležimo še dva velika izbruha v letih 2003 in 2007. Bolezen se je v letih 2003-2008 razširila in se ustalila na Gorenjskem, na območju Maribora, na Koroškem in na Notranjskem.

Način nadzora v posameznih evropskih državah je podoben in se spreminja glede na razširjenost infekcije. Povsod je bil v prvih letih pojava glavni ukrep uničevanje rastlin oziroma krčenje in sežiganje okuženih sadovnjakov ter intenzivno pregledovanje nasadov in drugih lokacij gostiteljskih rastlin. Tudi na ravni Evropske unije so iskali možnosti za zajezitev in kasneje obvladovanje bakterije. Kmalu po odkritju leta 1972, so na primer v

Belgiji ugotovili, da ne bodo mogli obdržati vse države pod nadzorom, zato so vse aktivnosti usmerili v vzpostavljanje t.i. nevtralnih območij (buffer zone).

Po določbah takratne Direktive Sveta 77/93/EGS z dne 21. decembra 1976 o varstvenih ukrepih proti vnosu za rastline ali rastlinske proizvode škodljivih organizmov v Skupnost in proti njihovemu širjenju po Skupnosti (sedanja Direktiva 2000/29/ES) je bilo že mogoče opredeliti tudi "varovana območja", ki so izpostavljena posebni nevarnosti za zdravstveno varstvo rastlin, in jim tako dodeliti posebno varstvo pod pogoji, ki so združljivi z notranjim trgov. Vnos sadilnega materiala na varovano območje iz druge države članice je mogoč le iz drevesnic na enakovrednih območjih ali iz uradno nadzorovanih nevtralnih območij, velikih vsaj 50 km². Take rastline mora spremljati rastlinski potni list z oznako ZP ter kodo varovanega območja (»b2«) ali navedbo države, za katero velja.

Izsledki nadzora v Sloveniji v obdobju 2003-2008, so bili ključni za trenutno razmejitev v skladu s prenovljenim nacionalnim predpisom Pravilnikom o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranje hruševega ožiga (Uradni list RS, št. 19/09) in Uredbo Komisije št. 690/2008. Z namenom preprečevanja širjenja bakterijske bolezni, varstva nasadov in pridelave rastlin za saditev, je Slovenija prvič pridobila status varovanega območja za hrušev ožig s podpisom pristopne pogodbe k Skupnosti, ki je priznavala celotno ozemlje kot varovano območje. Trenutno velja status varovanega območja za Slovenijo, razen za gorenjsko, koroško, mariborsko in notranjsko regijo, do 31. marca 2010.

V letu 2003 so bile okužbe prvič ugotovljene tudi v varovalnih pasovih mest za pridelavo rastlin za saditev na Gorenjskem, zato sta bili že v letu 2004 vzpostavljeni prvi dve nevtralni območji: Sorško polje in Volčji potok (Arboretum), v letu 2008 pa še nevtralno območje Selo v Prekmurju ter dve območji v vzpostavljanju (Maribor in Polhov Gradec).

Ukrepi za preprečevanje vnosa in širjenja hruševega ožiga se delijo na tri dele glede na posebnosti posameznih območij. Gorenjska, Koroška, Notranjska in Maribor tvorijo t.i. okuženo območje, kjer se izvajajo zadrževalni ukrepi, ostala Slovenija pa je varovano območje, kjer se izvajajo ukrepi za izkoreninjenje škodljivega organizma. Enaki ukrepi se izvajajo tudi v vzpostavljenih nevtralnih območjih. Ogrožena območja so območja z gostiteljskimi rastlinami za saditev in pridelavo plodov, na katerem so ekološki dejavniki ugodni za naselitev hruševega ožiga, katerega navzočnost bi v tem območju lahko povzročila pomembno gospodarsko škodo.

2 MATERIAL IN METODE

Posebne zahteve za premeščanje gostiteljskih rastlin hruševega ožiga na varovano območje so določene v Direktivi Sveta 2000/29/ES v Prilogi IV.B, točka 21. Ena od možnosti izpolnjevanja zahtev je, da so rastline pridelane, ali če so premeščene na nevtralno območje, gojene v njem vsaj 7 mesecev, vključno z obdobjem med 1. aprilom in 31. oktobrom zadnje celotne rastne dobe. Natančno so predpisani pogoji za mesto (enoto) pridelave, ki mora biti locirana vsaj 1 km znotraj meja uradno določenega 'nevtralnega območja'. Tako območje pokriva vsaj 50 km², na katerem se za gostiteljske rastline opravlja uradno odobreni in nadzorovani režim obvladovanja hruševega ožiga, že eno leto pred začetkom pridelave. V nevtralnem območju se uradni pregledi opravljajo vsaj enkrat v rastni dobi. Uradni pregledi v varovalnem pasu širine najmanj 500 m okrog enote pridelave (drevesnice, matičnega nasada ali zarodišča) se izvedejo najmanj enkrat, na enoti pridelave pa najmanj dvakrat v letu (enkrat v obdobju med junijem in avgustom in enkrat v obdobju med avgustom in novembrom). Pred premeščanjem pridelanih rastlin je obvezno uradno testiranje glede latentnih okužb z ustrezno laboratorijsko metodo na vzorcih, uradno vzetih v najprimernejšem obdobju. Na celotnem nevtralnem območju se mora vse gostiteljske rastline, ki kažejo simptome *Erwinia amylovora* (Burr.) Winsl. Winsl. *et al.*, takoj odstraniti. Posledica okužbe v 500-metrskem pasu je prepoved uporabe statusa ZP najmanj eno rastno dobo.

Nevtralna območja v Sloveniji določi Fitosanitarna uprava z odločbo in sicer na predlog imetnikov rastlin ali njihovega združenja ali po uradni dolžnosti ob upoštevanju naslednjih pogojev iz pravilnika o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranje hruševega ožiga:

- ekonomskega interesa pridelovalca, ki mora s to pridelavo ustvariti v gospodarskem letu dohodek najmanj v višini bruto letne povprečne plače na zaposlenega v Republiki Sloveniji ali pridelovati gostiteljske rastline na zemljišču večjem od 1000 m² za pokrite oziroma 10000 m² za nepokrite površine;
- možnosti prostorske izolacije od virov okužbe, tako da vsaka enota pridelave leži najmanj 1000 m od roba nevtralnega območja in
- drugih kriterijev ocene nevarnosti okužbe s hruševim ožigom v skladu z mednarodnim standardom za fitosanitarne ukrepe, izdanim na podlagi konvencije, ki ureja varstvo rastlin.

V skladu s pravilnikom o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranje hruševega ožiga je v nevtralnih območjih prepovedano sajenje okrasnih gostiteljskih rastlin.

Izpolnjevanje pogojev preverja uradna služba. Pri vzpostavitvi in vzdrževanju nevtralnega območja se upošteva tudi stroške vzpostavitve oziroma vzdrževanja območja (uradni pregledi, vzorčenja in izrekanje ukrepov), tržno vrednost predvidoma pridelanih gostiteljskih rastlin za saditev, poleg tega pa tudi okoljske in sociološke vidike. Uprava lahko po uradni dolžnosti ali na predlog Fitosanitarnе inšpekcije, imetnikov rastlin, njihovega združenja ali drugega zainteresiranega subjekta prilagodi ali prekliče nevtralno območje. Uprava prekliče nevtralno območje, če niso več izpolnjeni predpisani pogoji.

Vsa sedanja nevtralna območja (Arboretum, Sorško polje in Selo ter dve v vzpostavljanju: Dobrova-Polhov Gradec in Maribor) so vzpostavljena oziroma se vzpostavljajo po uradni dolžnosti. Glede na širitev in pojavnost hruševega ožiga bo nujno ugotavljati primernost vzpostavitve novih in vzdrževanje že obstoječih nevtralnih območij zlasti glede na visoke stroške pregledov in ukrepov.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Po podatkih Statističnega urada RS iz leta 2008 ugotavljamo, da tako število intenzivnih nasadov (iz 9.997 v letu 2006 na 8.928 v letu 2007) kot število mest pridelave gostiteljskih rastlin (iz 294 v letu 2006 na 224 v letu 2007) pada. Skupno vrednost pridelave sadik in podlag sadnih gostiteljskih rastlin v letu 2008 - 741 843 rastlin za saditev *Malus* in 90 068 *Pyrus* (podatek FURS, letna prijava pridelave za leto 2008) smo ocenili na 2.130.000 EUR.

Za oceno stroškov vzpostavitve in/ali vzdrževanja nevtralnega območja smo upoštevali stroške dela inšpektorja ali preglednika (pregledi in izrekanje ukrepov), potne stroške, vzorčenje za preverjanje latentne navzočnosti, vzorčenje rastlin s sumljivimi bolezenskimi znamenji in odškodnine (v primeru vzpostavljanja nevtralnega območja na okuženem območju). Ugotovili smo, da se stroški vzpostavitve oziroma vzdrževanja enega nevtralnega območja gibljejo od minimalno 10.000 do 30.000 EUR. Glede na podatke iz letne prijave pridelave v letu 2008 smo izračunali, da je v treh nevtralnih območjih tržna vrednost pridelave rastlin za saditev okvirno 30.000 EUR, v enem 24.000 EUR in v zadnjem nevtralnem območju le 6.000 EUR. Ugotovili smo tudi, da večina pridelovalcev rastline za saditev prodaja le lokalno, na domu in niso namenjene za tržno pridelavo plodov (Preglednica 1).

Poudarili smo že, da gre večinoma za omejen lokalni trg, kjer tveganje za prenašanje in širjenje bolezni z rastlinami za saditev ni veliko. Ugotavljamo tudi, da se pridelovalcem na sedanjih nevtralnih območjih prodaja ne bi zmanjšala, če bi tržili samo sadike z navadnim rastlinskim potnim listom.

Vzpostavitev in vzdrževanje nevtralnega območja ima tudi okoljske in socialne posledice. Z obsežnejšim odstranjevanjem značilnih visokoraslih gostiteljskih rastlin jablan in hrušk spreminjamo kulturno krajino, saj odstranjevanje le vizualno okuženih delov rastlin po veljavnih predpisih na takih območjih ni dovoljeno. Tudi z odstranjevanjem okuženih rastlin

v proizvodnih nasadih na nevtralnih območjih lahko povzročamo dodatno gospodarsko škodo. Natančni pregledi in dosledna uničevanja okuženih sadnih in okrasnih dreves in grmov na zasebnih vrtovih, ki so predpisana zaradi statusa nevtralnega območja, med prebivalci seveda niso priljubljena. Ponekod pa je do teh ukrepov izražen izjemno negativen odnos. Predpisani ukrepi za vzdrževanje takšnega območja tako povzročajo konflikte v odnosih med drevesničarji in sadjarji ter lastniki vrtov.

Preglednica 1: Pridelava sadilnega materiala in prodajne poti po organizacijskih enotah FSI

Enota	Vrsta drevesnice	Število drevesnic	Prodaja			
			lokalni trg (vrtičkarji)	tržni pridelovalci	v druge države članice	države izven EU
M. Sobota	Sadna	8	8	2	1	1
	Okrasna	3	3	-	-	-
Maribor	Sadna	8	6	2	1	1
	Okrasna	1	1	-	-	-
Kranj	Sadna	4	4	-	-	-
	Okrasna	1	1	-	-	-
Obrežje	Sadna	5	5	-	-	-
	Okrasna	1	1	-	-	-
Ljubljana	Sadna	5	5	-	-	-
	Okrasna	4	4	-	-	-
Celje	Sadna	4	4	2	1	1
	Okrasna	2	2	-	-	-
N. Gorica	Sadna	2	2	1	-	-
	Okrasna	2	2	-	-	-
Skupaj RS	Sadna	36	34	8	3	3
	Okrasna	14	14	-	-	-

Pomembni fitosanitarni in gospodarski učinki vzpostavitve in vzdrževanja nevtralnih območjih so, da je zmanjšana možnost širitve hruševega ožiga z rastlinami za saditev in širjenje izven okuženih območij (če prodaja poteka zunaj lokalnega trga). Pridelava sadik s statusom ZP je vsekakor smiselna za drevesnice, ki prodajajo sadike tržnim pridelovalcem tako v Sloveniji kot v Evropski uniji ali v tretje države. V Sloveniji so trije takšni pridelovalci. Pri tem tudi ne smemo prezreti, da se lahko na nevtralna območja premeščajo rastline brez posebnega statusa ZP-b2 tudi iz drugih držav članic. Iz tega sledi, da vztrajanje pri pridelavi sadik v Sloveniji izključno na varovanem in nevtralnih območjih, ne zagotavljata trgovanja izključno s sadikami, ki so pridelana pod posebnimi pogoji za varovana območja (ZP). Poleg tega ni razlike v ceni sadik s statusom ZP ali navadnim rastlinskim potnim listom.

4 SKLEPI

Kje je torej v Sloveniji možno, smiselno in upravičeno vzpostavljanje nevtralnih območij? Status varovanega območja je za Slovenijo (razen za gorenjsko, koroško, mariborsko in notranjsko regijo) podaljšan do 31. marca 2010. Uradna fitosanitarna služba bo zato na tem območju izvajala intenzivni nadzor. Sedanja nevtralna območja so večinoma na okuženih območjih, kjer je mogoče od spremembe pravilnika o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranje hruševega ožiga v letu 2009, pridelovati tudi gostiteljske rastline z navadnim rastlinskim potnim listom. Glede na Direktivo 2000/29/ES je pogoj za takšno pridelavo le, da so bila na polju pridelave in v njegovi neposredni bližini odstranjene rastline, ki so kazale znamenja okužbe z bakterijo *Erwinia amylovora* (Burr.) Winsl. et al. Zato bo za vsako novo

nevtralno območje zagotovo potrebno temeljito preučiti in analizirati tako stroške nevtralnega območja kot fitosanitarne in gospodarske učinke. Enako velja ponovno preučiti status sedanjih nevtralnih območij.

5 LITERATURA

- Brecl, A. 2004. Odkritje in širjenje bakterije *Erwinia amylovora* (Burill) Winslow et al. Hrušev ožig - *Erwinia amylovora*, SAD: 7-15
- Knapič, V. 2004. Varovana območja za hrušev ožig, SAD - *Erwinia amylovora*, SAD: 117-120
- Direktiva Komisije. 1992. Direktiva komisije 92/70/EGS, z dne 30. julija 1992 o določitvi podrobnih pravil za popise, ki se opravijo za priznanje varovanih območij v Skupnosti
- Direktiva Sveta. 2000. Direktiva Sveta št. 2000/29/ES z dne 8. maja 2000 o varstvenih ukrepih proti vnosu organizmov, škodljivih za rastline ali rastlinske proizvode, v Skupnost in proti njihovem širjenju v Skupnost (UL L 169, 10.07.2000).
- Pravilnik. 2009. Pravilnik o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranje hruševega ožiga (Uradni list RS, št. 19/09)

UGOTAVLJANJE POJAVA TRSNIH RUMENIC V SLOVENIJI V LETU 2008

Erika OREŠEK¹, Gabrijel SELJAK²

¹MKGP, Fitosanitarna uprava RS, Ljubljana

²KGZS, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica, Nova Gorica

IZVLEČEK

Program posebnega nadzora trsni rumenic se v Sloveniji izvaja v vseh vinorodnih deželah od leta 2002. Namen programa je ugotavljanje zlate trsne rumenice (povzročitelj fitoplazma *Grapevine flavescence dorée* - FD), trsne rumenice počrnelosti lesa (povzročitelj fitoplazma Bois noir - BN), fitoplazem v slaku (*Convolvulus arvensis*), navadnem srobotu (*Clematis vitalba*) in v škržatkih, ki so prenašalci trsni rumenic. Spremlja se tudi ulov ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*), ki je naravni prenašalec FD na okuženem območju. Karantenska zlata trsna rumenica je bila pri nas prvič najdena v okolici Kopra v slovenski Istri v letu 2005, nato pa še v letih 2006 in 2007, zato je Fitosanitarna uprava z odločbo razmejila žarišča in pripadajoča varnostna območja ter predpisala ukrepe za izkoreninjenje in preprečevanje nadaljnega širjenja. V letu 2008 je bila FD prvič ugotovljena v vinorodni deželi Posavje na lokaciji Piroški vrh na Dolenjskem, ponovno je bila potrjena tudi v dveh žariščih v okolici Kopra, določenih v letih 2006 in 2007. V ameriškem škržatku v letu 2008 FD ni bila ugotovljena, v navadnem srobotu pa je bila potrjena FD v vseh treh vinorodnih deželah. Sistematični nadzor ameriškega škržatka v letu 2008 potrjuje njegovo splošno razširjenost v vseh treh vinorodnih deželah. Trsna rumenica počrnelosti lesa je pri nas razširjena v vseh vinorodnih deželah, kar je bilo ugotovljeno tudi v letu 2008. Ta fitoplazma je bila v letu 2008 ugotovljena tudi v vzorcih njivskega slaka (*Convolvulus arvensis*) v Posavski in Podravski vinorodni želeli.

Ključne besede: fitoplazme, zlata trsna rumenica, trsna rumenica počrnelosti lesa, ameriški škržatek

ABSTRACT

SURVEY OF GRAPEVINE YELLOWS IN SLOVENIA IN 2008

The survey of Grapevine Yellows has been carried out since 2002 in all Slovene wine regions with the aim to establish the occurrence of quarantine Grapevine flavescence dorée phytoplasma (FD), Bois noir phytoplasma (BN), the occurrence of phytoplasmas in *Convolvulus arvensis*, *Clematis vitalba* and in leafhoppers, which are the vectors of phytoplasmas. Also the monitoring of *Scaphoideus titanus* has been carried out. The first finding of FD in Slovenia was confirmed near Koper in Slovenian Istria in 2005, and after that in 2006 and 2007. Therefore, the foci and their buffer areas were delimited and the measures were implemented to eradicate the disease and to prevent its further spread. In 2008, FD was confirmed for the first time in the Posavje wine region at the location Piroški vrh in Dolenjska and it also occurred in two foci near Koper, delimited in 2006 and in 2007. Furtheron, FD was not detected in its natural vector *S. titanus*, but it was confirmed in plants of *C. vitalba* in all three Slovene wine regions. In the monitoring in 2008, the presence and widespread of *S. titanus* was confirmed in all three Slovene wine regions. Also BN was

¹ mag. agr. znan., Einspielerjeva 6, SI-1000 Ljubljana

² mag. agr. znan., Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica

confirmed as widespread in Slovenia. This phytoplasma was also detected in samples of *C. arvensis* from Posavje and Podravje winegrowing regions.

Key words: phytoplasmas, grapevine flavescence dorée, Bois noir phytoplasma, *Scaphoideus titanus*

1 UVOD

Trsne rumenice so fitoplazmatske bolezni vinske trte, ki so si po bolezenskih znamenjih zelo podobne. Prenašajo jih različni škrdžatki (Hemiptera: Auchenorrhyncha). V Evropi so bile doslej na vinski trti ugotovljene 3 skupine fitoplazem: skupina brestovih rumenic, v katero spada zlata trsna rumenica; skupina stolbur, v katero spada rumenica počrnelosti lesa ter skupina rumenic aster. Posameznih tipov trsnih rumenic brez laboratorijskih analiz ne moremo ločiti med seboj. Pri nas sta bila doslej ugotovljena dva tipa trsnih rumenic: zlata trsna rumenica in rumenica počrnelosti lesa.

Zlato trsno rumenico povzroča fitoplazma Grapevine flavescence dorée (FD), ki je v EU uvrščena v prilogo II A 2 direktive 2000/29/ES in je karantenski škodljivi organizem za trto vključno s podlagami. Prenaša jo ameriški škrdžatek (*Scaphoideus titanus* Ball), ki živi samo na trti. Če je populacija škrdžatka v vinogradih velika, je tudi možnost za prenos toliko večja. Tako se bolezen lahko zelo hitro širi in doseže razsežnosti epifitocije. Okužene trte slabše rodijo, pridelek je slabši tudi po kakovosti, vinogradi pa lahko v nekaj letih propadejo. Izkušnje iz nekaterih evropskih držav kažejo, da v vinogradništvu lahko nastane velika gospodarska škoda, če ob prvih okužbah pravočasno ne ukrepamo. V novejših raziskavah je bilo ugotovljeno, da je poleg trte gostiteljska rastlina za FD tudi navadni srobot (*Clematis vitalba*) ter da je možni prenašalec FD tudi škrdžatek *Dictyophara europaea* (Filippin in sod., 2007). Eksperimentalno je bilo tudi dokazano, da lahko ta škrdžatek prenese FD s srobotom na vinsko trto (Filippin in sod., 2009).

Zlata trsna rumenica je v Evropi razširjena v dveh območjih: v zahodni Evropi se je najprej razširila v Franciji, od tam pa še v Italijo in Španijo. Škode so bile velike, saj so propadali celi vinogradi. V zadnjih letih pa je bila najdena tudi v Švici (Gugerli in sod., 2006). Drugo območje v Evropi je Srbija (Duduk in sod., 2003).

Pri nas so bolezenska znamenja trsnih rumenic prvič opazili v Goriških Brdih leta 1983 (Seljak, 1991). V letu 1991 pa tudi na Štajerskem na sorti Chardonnay v vinogradih, ki so bili zasajeni z uvoženimi cepljenkami francoskega izvora (Škerlavaj in sod., 1997). Ameriški škrdžatek je bil najden na Primorskem prvič v letu 1983, na Štajerskem leta 2003 in na Dolenjskem leta 2005 (Seljak, 1985; Seljak, 1987; Seljak, 1993; Seljak, 2008).

Zlata trsna rumenica je bila pri nas prvič v okviru posebnega nadzora ugotovljena v okolici Kopra v slovenski Istri leta 2005 na sorti Sivi pinot (Seljak & Orešek, 2007). Zato je bilo tam z odločbo Fitosanitarnе uprave določeno razmejeno območje in uvedeni fitosanitarni ukrepi. V letih 2006 in 2007 je bila FD odkrita še na treh lokacijah v vinogradih na tem območju. Tako je razmejeno območje v letu 2007 segalo od italijanske do hrvaške meje v koprski ter deloma v izolski občini.

S posebnim nadzorom trsnih rumenic je bilo v preteklih letih ugotovljeno, da je v Sloveniji v vseh treh vinorodnih deželah razširjena rumenica počrnelosti lesa, ki jo povzroča fitoplazma Bois noir (BN) (Seljak & Orešek, 2007), ki ne spada med karantenske škodljive organizme. To fitoplazmo prenaša svetleči škrdžatek (*Hyalesthes obsoletus* Signoret), ki sicer živi na različnih zeleh, predvsem na njivskem slaku (*Convolvulus arvensis*) in veliki koprivi (*Urtica dioica*) ter tudi na zlatih (*Ranunculus* spp.), razhudnikih (*Solanum* spp.) in sivki (*Lavandula* sp.) (Maixner, 1994). Potencialni prenašalec fitoplazem tipa stolbur je tudi škrdžatek vrste *Reptalus panzeri* (Palermo in sod., 2004). *H. obsoletus* zaide na trto le naključno, kadar živi v vinogradih na plevelih. Zato se ta fitoplazma ne širi tako hitro in ne povzroča tako velikih

škod kot FD, saj ne povzroča propadanja trt, znana pa je tudi navidezna "ozdravitev" trt, ko okužene trte po nekaj letih ne kažejo več bolezenskih znamenj in lahko normalno rastejo in rodijo. Ta tip rumenice je v preteklih letih predvsem na Štajerskem povzročal vinogradnikom precejšnjo škodo. Oba tipa trsnih rumenic se lahko preneseta z okuženim sadilnim materialom tudi na daljše razdalje.

Po laboratorijski potrditvi prve najdbe v Slovenski Istri so bila v letih 2006 in 2007 z odločbami Fitosanitarne uprave določena razmejena območja, ki obsegajo žarišče okužbe in varnostno območje. Žarišče okužbe je območje s polmerom 1 km okrog točke najdbe, varnostno območje pa sega od roba žarišča okužbe do najmanj 5 km in je določeno z mejami katastrskih občin. Z odločbo so določeni tudi ukrepi izkoreninjenja in preprečevanja širjenja te nevarne fitoplazme, ki so med drugim uničenje okuženih trt in trt z bolezenskimi znamenji trsnih rumenic v žarišču okužbe ter odvzem vzorcev s simptomatičnih trt v varnostnem območju, obvezno pa je tudi zatiranje prenašalca ameriškega škržatka.

2 METODE UGOTAVLJANJA TRSNIH RUMENIC

Uradno sistematično raziskavo, ki je del posebnega nadzora trsnih rumenic, pri nas izvajamo od leta 2002 z namenom ugotavljanja morebitne njihove najdbe ter razširjenosti zlate trsne rumenice. V izvajanje posebnega nadzora, ki ga koordinira Fitosanitarna uprava RS, je vključena fitosanitarna inšpekcija ter strokovne inštitucije: Kmetijsko gozdarski zavodi Nova Gorica, Novo mesto in Maribor, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije ter Kmetijski inštitut Slovenije, laboratorijske analize pa opravljajo v pooblaščenem laboratoriju Nacionalnega inštituta za biologijo.

V okviru posebnega nadzora ugotavljamo v vseh vinorodnih deželah trsne rumenice v trti, plevelih in prenašalcih škržatkih, izvajamo pa tudi monitoring škržatkov, predvsem ameriškega škržatka.

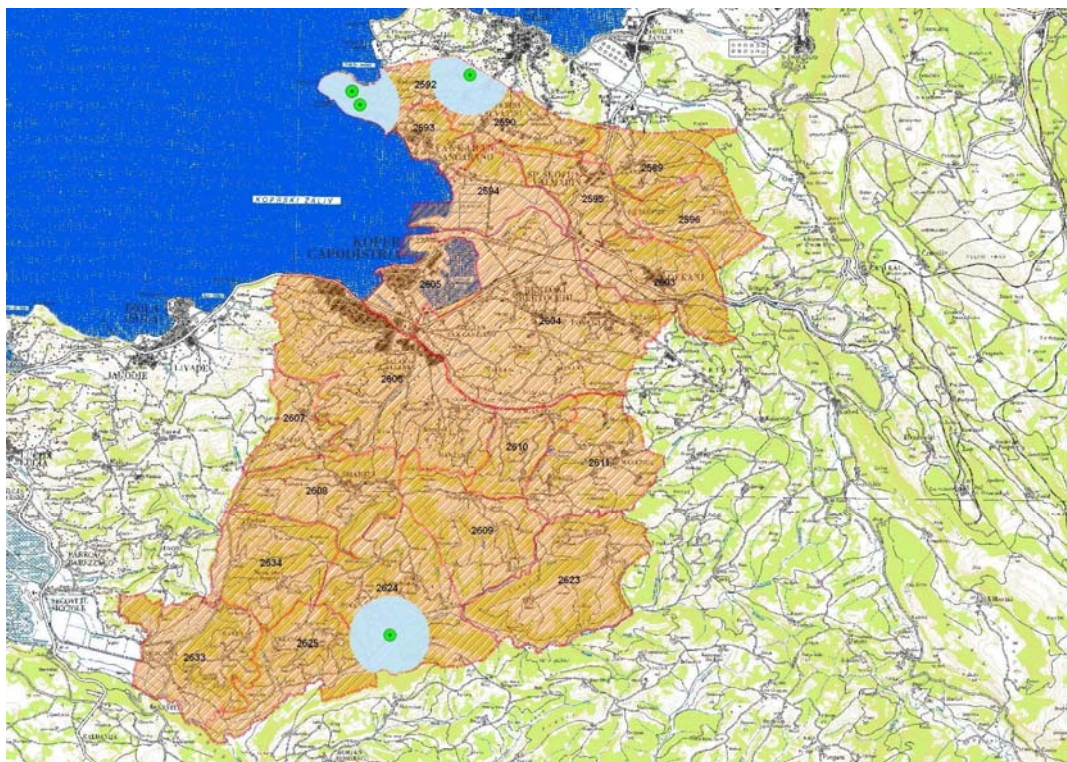
2.1 Ugotavljanje trsnih rumenic

Trsne rumenice smo v letu 2008 ugotavljali v trti, v škržatkih in plevelih oziroma v samoniklih rastlinah. Izvajalci posebnega nadzora so v času od julija do konca septembra opravljali vizualne preglede vinogradov za pridelavo grozdja, matičnih nasadov in trsnic v vseh treh vinorodnih deželah z namenom, da bi odkrili bolezenska znamenja trsnih rumenic.

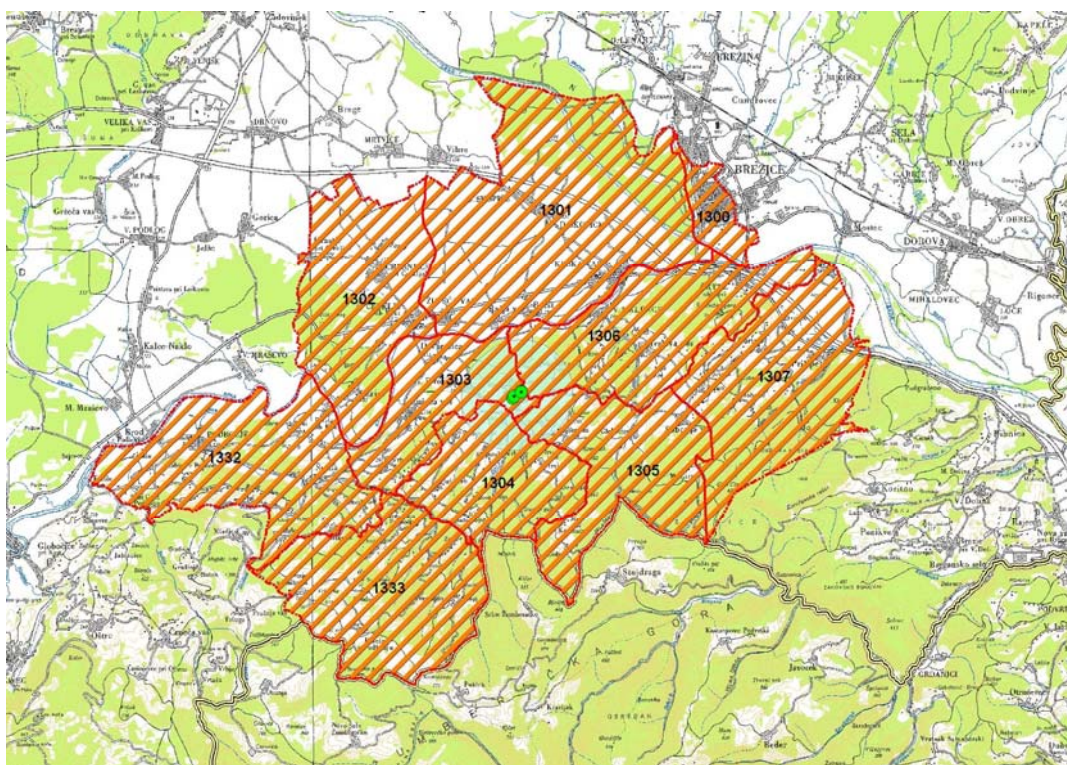
V primeru najdbe teh znamenj na trti so odvzeli uradni vzorec za laboratorijsko analizo, s katero so trsne rumenice potrdili ali ovrgli. Analize na zastopanost trsnih rumenic ter določitev tipa so opravili na Nacionalnem inštitutu za biologijo. Da bi z laboratorijskimi analizami zajeli čim več trt z bolezenskimi znamenji, so na nekaterih lokacijah odvzeli kumulativne vzorce, v katere so bili ločeno nabrani poganjki z listi z do petih trsov. Vsak podvzorec v kumulativnem vzorcu je bil zapakiran ločeno in označen. V primeru, ko so v laboratoriju v kumulativnem vzorcu potrdili FD, so opravili analizo ponovno za vsak podvzorec posebej, da bi ugotovili, kateri od vzorcev je resnično okužen.

V letu 2008 so izvajalci v vseh treh vinorodnih deželah za laboratorijsko analizo fitoplazem odvzeli tudi vzorce ameriškega škržatka ter drugih škržatkov, ki so potencialni prenašalci fitoplazme tipa stolbur. Škržatke so, če je bilo to mogoče, vzorčili na trtah z bolezenskimi znamenji. Vzorčili so z entomološko mrežo ali z otresanjem v entomološki lijak, vzorčenje pa je potekalo v obdobju od sredine julija do začetka septembra. Škržatke so shranili v 96 do 99 % etanolu in jih poslali v analizo na Nacionalni inštitut za biologijo.

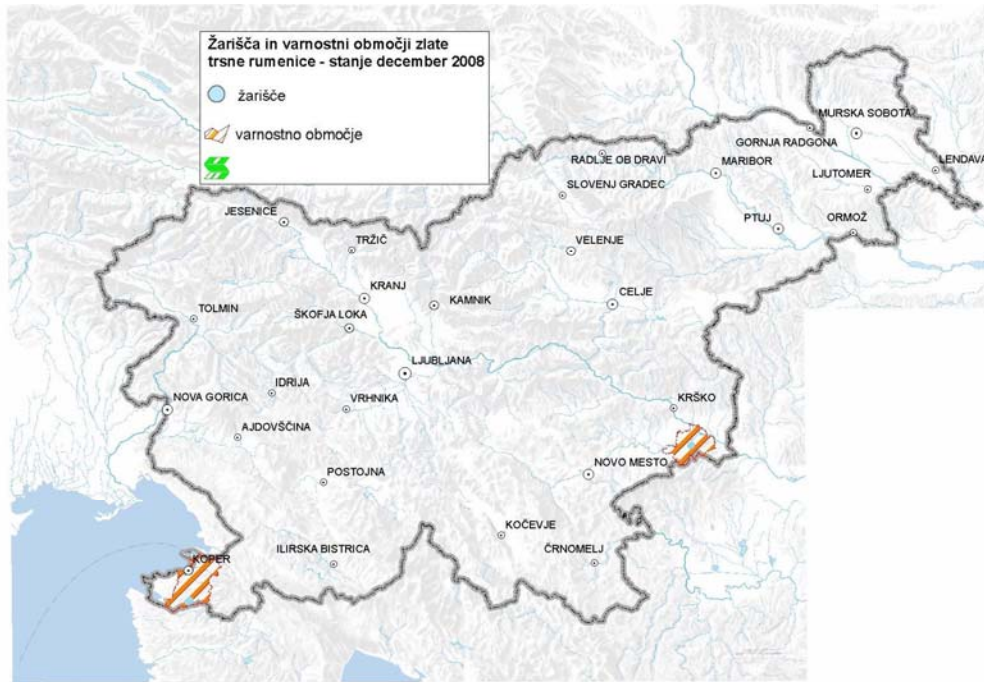
Trsne rumenice smo z laboratorijskimi analizami ugotavljali tudi v nekaterih plevelih, za katere je znano, da so lahko gostiteljske rastline fitoplazem, ki povzročajo trsne rumenice. Tako so izvajalci v letu 2008 odvzeli vzorce s simptomatičnih rastlin slaka in navadnega srobo.



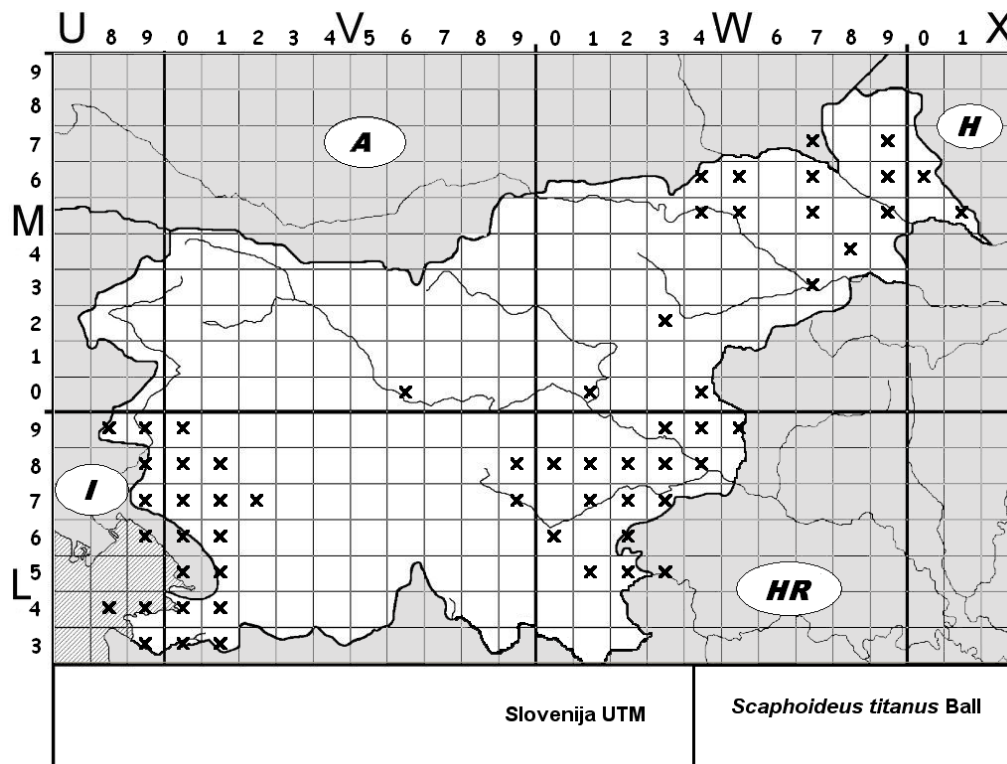
Slika 1: Razmejeno območje v slovenski Istri z žarišči Ankaran, Debeli Rtič in Koštabona



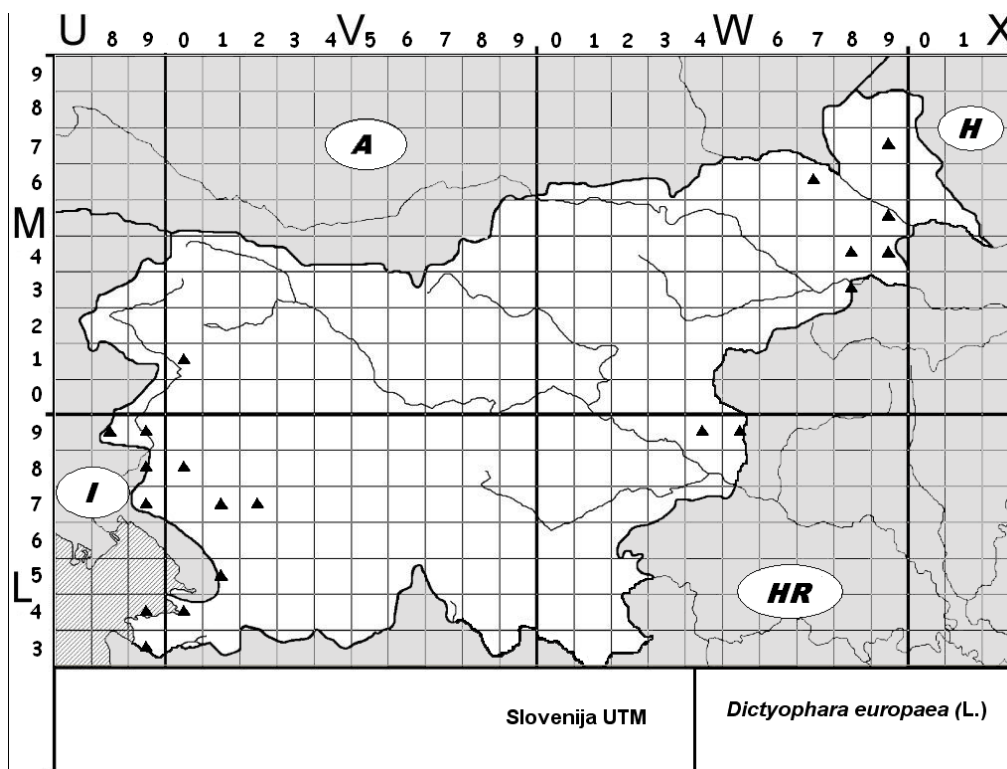
Slika 2: Razmejeno območje Pirošica na Dolenjskem z žariščem Piroški vrh



Slika 3: Razmejeni območji v slovenski Istri in Pirošica na Dolenjskem



Slika 4: Prikaz razširjenosti ameriškega škržatka v Sloveniji v letu 2008.



Slika 5: Sedanja znana razširjenost škrdatka *Dictyophara europaea* v Sloveniji.

2.2 Monitoring zastopanosti ameriškega škrdatka

Da bi ugotovili razširjenost ameriškega škrdatka, smo v vseh treh vinorodnih deželah spremljali ulov ameriškega škrdatka. Za ta namen so bile v vinogradih na različnih lokacijah v juliju, avgustu in septembru nastavljene rumene lepljive plošče, ki jih je bilo potrebno menjati najmanj na 2 do 3 tedne. V vinogradih na razmejenem območju v Slovenski Istri so rumene lepljive plošče postavili tudi fitosanitarni inšpektorji z namenom, da bi spremljali učinkovitost ukrepov zatiranja ameriškega škrdatka. Plošče so bile postavljene pred tretiranjem škrdatkov ter po 1. in po 2. tretiranju. Število postavljenih vab je bilo odvisno od velikosti vinograda. V vinogradih, manjših od 2 hektarov, so izobesili vsaj tri rumene plošče na različna mesta, v večjih vinogradih pa vsaj eno vabo na hektar vinograda. Določitev škrdatkov je bila opravljena v entomološkem laboratoriju Kmetijsko gozdarskega zavoda Nova Gorica.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Zastopanost trsnih rumenic

3.1.1 Vinska trta

V okviru posebnega nadzora so bili v letu 2008 odvzeti 204 vzorci vinske trte, skupno pa je bilo opravljenih 217 analiz. Z laboratorijsko analizo je bila potrjena FD v 8 trtah, od tega so bile pozitivne 4 trte na novem razmejenem območju Pirošica na Dolenjskem, ostale 4 trte pa so bile pozitivne v Slovenski Istri v žariščih Koštabona in Debeli Rtič.

V žariščih Purissima in Ankaran v letu 2008 z laboratorijskimi analizami ni bila ugotovljena FD. Ker v tem žarišču FD z laboratorijskimi analizami ni bila potrjena že 2 leti, je bilo z odločbo Fitosanitarnе uprave to žarišče izbrisano in je v letu 2009 uvrščeno med žarišča v mirovanju, varnostno območje pa je bilo ustrezno zmanjšano. Razmejeno območje v

Slovenski Istri je prikazano na sliki 1 v prilogi. Žarišče v mirovanju še vedno leži v varnostnem območju in bo pod uradnim nadzorom tudi v naslednjih letih. V Podravski vinorodni deželi FD v trti ni bila ugotovljena.

Ker je bila v avgustu 2009 na Dolenjskem ugotovljena FD v navadnem srobotu, so bili natančneje pregledani vinogradi v pasu 1 km okrog tega srobotu, odvzetih je bilo 66 kumulativnih vzorcev vinske trte. FD je bila ugotovljena v 3 kumulativnih vzorcih, zato so bile analize opravljene ponovno za vsak podvzorec posebej. FD je bila ugotovljena v 4 trtah iz 3 vinogradov.

Zaradi najdbe FD na Dolenjskem je Fitosanitarna uprava z odločbo določila novo razmejeno območje Pirošica na Dolenjskem, ki je prikazano na sliki 2 v prilogi. Obe razmejeni območji sta prikazani na sliki 3 v prilogi.

V dveh vzorcih je bila v letu 2008 ugotovljena hkrati FD in BN, in sicer v 1 trti na Dolenjskem ter v 1 trti na Primorskem. V skupno 113 vzorcih je bila ugotovljena samo BN. BN je bila ugotovljena v vseh treh vinorodnih deželah, tudi v matičnih vinogradih in v trsnicah, zaradi česar obstaja nevarnost prenosa s sadilnim materialom. V skupno 65 vzorcih niso bile ugotovljene fitoplazme, čeprav so trte kazale bolezenska znamenja trsnih rumenic. Natančnejši podatki o rezultatih laboratorijskih analiz trte glede trsnih rumenic po posameznih vinorodnih deželah so v preglednici 1.

Preglednica 1: Rezultati analiz trsnih rumenic v vzorcih vinske trte po vinorodnih deželah v letu 2008.

Rezultati laboratorijskih analiz	Št. opravljenih analiz po vinorodnih deželah			
	Primorska	Podravska	Posavska	Skupaj
Poz. BN, neg. FD	64	26	49	113
Poz. na FD in BN	1	0	2*	3
Poz. FD, neg. BN	3	0	5*	8
nepotrjen sum na fitoplazme	2	0	0	2
neg. fitoplazme	40	2	23	65
Skupno število opravljenih laboratorijskih analiz	110	28	79	217

* Zaradi ponovne analize podvorcev je število opravljenih analiz višje kot število pozitivnih trt.

3.1.2 Navadni srobot in njivski slak

Skupno je bilo odvzetih 9 vzorcev navadnega srobotu v vseh treh vinorodnih deželah. Analiza je pokazala FD v 6 vzorcih, od teh so bili 3 vzorci iz vinorodne dežele Primorske, 1 vzorec iz Posavske (Dolenjska) ter 2 vzorca iz Podravske vinorodne dežele.

BN je bila ugotovljena v 3 vzorcih slaka iz Posavske in Podravske vinorodne dežele, in sicer v 2 vzorcih iz Posavske in v 1 vzorcu iz Podravske vinorodne dežele. Natančnejši rezultati laboratorijskih analiz so v preglednici 2.

Preglednica 2: Fitoplazme v plevelih in škržatkih po vinorodnih deželah

Vinorodna dežela	Rezultati laboratorijskih analiz					SKUPAJ
	neg. fitoplazme	poz. BN	poz. FD	nepotrjen sum na fitoplazme	neustrezen vzorec	
Primorska						
Slak	3					3
Srobot	2		3		1	6
<i>Scaphoideus titanus</i>	3			1		4
<i>Reptalus panzeri</i>	1					1

<i>R. quinquecostalis</i>	1					1
Posavska						
slak		2				2
Srobot			1			1
škržatki	1					1
<i>Scaphoideus titanus</i>	1					1
Podravska						
slak	1	1				2
Srobot			2			2
<i>Scaphoideus titanus</i>	2					2
SKUPAJ						
Slak	4	3	0	0	0	7
Srobot	2	0	6	0	1	9
<i>Scaphoideus titanus</i>	6	0	0	1	0	7
<i>Reptalus panzeri</i>	1	0	0	0	0	1
<i>R. quinquecostalis</i>	1	0	0	0	0	1
škržatki	1	0	0	0	0	1
SKUPAJ škržatki	9	0	0	1	0	10
SKUPAJ pleveli	6	3	6	0	1	16

3.1.3 Škržatki

Skupno je bilo odvzetih 10 vzorcev škržatkov, od tega je bilo 7 vzorcev ameriškega škržatka ter po 1 vzorec škržatka vrst *Reptalus panzeri* in *Reptalus quinquecostalis*, v 1 vzorcu pa so bili različni škržatki, potencialni prenašalci fitoplazem iz skupine stolbur. V skupno 9 vzorcih škržatkov niso bile ugotovljene fitoplazme. V 1 vzorcu ameriškega škržatka pa je sum na fitoplazme obstajal, z laboratorijsko analizo so dokazali fitoplazme na splošno, vendar tipa fitoplazme niso uspeli določiti. Natančnejši rezultati laboratorijskih analiz so prikazani v preglednici 2.

3.2 Monitoring zastopanosti ameriškega škržatka

Po podatkih KGZ Novo mesto, Nova Gorica in Maribor ter FSI so se škržatki na rumene lepljive plošče ujeli v juliju, avgustu in septembru. Največ škržatkov je bilo ulovljenih v avgustu, ponekod pa tudi v septembru.

V Primorski vinorodni deželi so bile rumene lepljive plošče postavljene na 7 lokacijah v Vipavski dolini ter na 6 lokacijah v Goriških Brdih. Po podatkih Kmetijsko gozdarskega zavoda Nova Gorica so bili ameriški škržatki ulovljeni na vseh 7 lokacijah v Vipavski dolini, na 1 lokaciji je bil ulovljen v celotnem obdobju le 1 osebek. Na ostalih lokacijah so bili ulovi močnejši (skupno od 9 do 56 škržatkov na posamezni lokaciji). V Goriških Brdih je bil ulov manjši. Na 2 lokacijah ni bil ulovljen noben škržatek, na 2 lokacijah pa so bili ulovljeni le posamezni osebki. Le na 1 lokaciji v Goriških Brdih je bil ulov močnejši (skupno 145 osebkov). Na razmejenem območju na Koprskem so bili po podatkih fitosanitarne inšpekcije na večino rumenih plošč ulovljeni posamezni osebki, le na 1 lepljivi plošči je bilo ulovljenih v začetku septembra 14 osebkov.

V Podravske vinorodni deželi je bil ulov po podatkih KGZ Maribor manjši kot na Primorskem, na rumenih lepljivih ploščah so bili ulovljeni le posamezni osebki. Škržatki so bili v Podravske vinorodni deželi najdeni tudi na novih lokacijah, kjer jih v prejšnjih letih niso zasledili: Stretetina v Ormoško Ljutomerskih gorica in v Zbigovcih, v Slovenskih gorica (Andrenci - Grabonoški vrh), v Lendavskih gorica (Dolga vas), na novi lokaciji v Halozah (Pestike in Dravinjski vrh), v Dobrovniku ter v Gančanih v ravninskem delu Prekmurja.

V Posavski vinorodni deželi so bili po podatkih KGZ Novo mesto škržatki ulovljeni na vseh desetih lokacijah. Najmočnejši je bil ulov v vinogradu v okolici Krškega, kjer je bilo na dveh mestih v vinogradu na plošče ulovljenih skupno 215 in 400 škržatkov. Tudi na ostalih lokacijah je bil ulov močan. Podatki o ulovih ameriškega škržatka so v preglednici 3.

Preglednica 3: Podatki o ulovu ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*) na rumene lepljive plošče v letu 2006

Vinorodna dežela	Podatki	Število lokacij	Skupno število škržatkov na ploščo na lokaciji
Primorska – Goriško	KGZ Nova Gorica	13	1 – 56 (Vipavska dolina) 0 – 145 (Goriška Brda)
Koprsko – razmejeno območje	FSI		0 – 14*
Posavska	KGZ Novo mesto	10	20 - 400
Podravska	KGZ Maribor	9	0 - 2

* 14 osebkov: v času od 24. 7. do 3. 9. 2008

Prikaz podatkov o razširjenosti ameriškega škržatka v Sloveniji v letih od 2005 do 2008 je na sliki 4 v prilogi 2.

Monitoring ameriškega škržatka je tudi v letu 2008 pokazal, da je ta razširjen v vseh vinorodnih deželah, vendar so razlike v ulovu na posameznih lokacijah. Na nekaterih lokacijah se na rumene lepljive plošče ni ujel noben škržatek. Ponekod je ameriškega škržatka več v vinogradih, za katere je znano, da v njih v preteklih letih za zatiranje grozdnih sukačev niso uporabljali insekticidov, ki obenem delujejo tudi na ameriškega škržatka.

Ugotavljanje razširjenosti in populacije škržatka vrste *Dictyophara europaea* doslej ni bilo vključeno v posebni nadzor trsnih rumenic. Doslej znana razširjenost te vrste v Sloveniji, ki pa je zagotovo zelo nepopolna, je prikazana na sliki 5. v prilogi 2.

4 SKLEP

Na podlagi ugotovitev sistematične raziskave 2002 – 2007 in rezultatov posebnega nadzora v letu 2008 ugotavljamo, da se je ameriški škržatek razširil v vse vinorodne dežele, vendar se zlata trsna rumenica doslej v Sloveniji še ni razširila, saj so bile okužene le posamezne trte v nekaj vinogradih v slovenski Istri in na Dolenjskem, ki so bile takoj izkrcene. Da bi preprečili nadaljnje širjenje, je pomembno, da se dovolj zgodaj ugotovi morebitne okužene trte, ki so vir za nadaljnje širjenje okužbe. Monitoring ameriškega škržatka je tudi v letu 2008 pokazal, da je ta navzoč v vseh treh vinorodnih deželah. Zato je zaradi preprečevanja širjenja nujno tudi zatiranje ameriškega škržatka, da bo njegova populacija kar se da nizka.

Zlata trsna rumenica je bila v letu 2008 ponovno najdena v dveh žariščih v razmejenem območju v Slovenski Istri ter na novi lokaciji na Dolenjskem, zaradi česar je bilo določeno novo razmejeno območje Pirošica z žariščem Piroški vrh. Okužene trte so bile najdene v okolici navadnega srobotna, okuženega s FD. Na razmejenih območjih je obvezno dosledno zatiranje prenašalca FD ameriškega škržatka v vinogradih za pridelavo grozdja ter v matičnih

vinogradih, matičnjakih in trsnicah. To zatiranje je nujen ukrep, da bi preprečili širjenje te nevarne fitoplazme in s tem veliko gospodarsko škodo.

Iz rezultatov posebnega nadzora v letu 2008 je razvidno, da je pri nas s FD okužen tudi navadni srobot, kar je zaskrbljujoče. Ker je v slovenskih vinogradih zastopan tudi potencialni prenašalec FD z navadnega srobot na trto, škržatek *Dictyophara europaea*, je možen tudi ta prenos. Možnost prenosa je še večja, če navadni srobot raste v vinogradih in njihovi neposredni okolici. Zato je priporočljivo odstraniti rastline navadnega srobot iz vinogradov in njihove okolice, še posebej pa je to pomembno v matičnih nasadih ter trsnicah in v njihovi neposredni okolici. Po novem pravilniku iz leta 2009 o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranje zlate trsne rumenice bo za matične vinograde, matičnjake in trsnice ter njihovo okolico ta ukrep obvezen.

Razširjenost rumenice počrnelosti lesa v vseh treh vinorodnih deželah je bila potrjena tudi v letu 2008, zaskrbljujoč pa je pojav te fitoplazme v matičnih vinogradih ter trsnicah, saj je tako ogrožena pridelava zdravega sadilnega materiala. Iz teh ugotovitev lahko sklepamo, da bi bilo potrebno v matičnih vinogradih in njihovi okolici dosledno zatirati gostitelje te fitoplazme, predvsem njivski slak in veliko koprivo.

Določene omejitve pri obvladovanju trsnih rumenic predstavlja tudi integriran način pridelave grozdja, kjer je zelo omejena uporaba insekticidov s širšim obsegom delovanja. V takih vinogradih se lahko prenašalci trsnih rumenic veliko bolj namnožijo. Nujno je tudi izkrcenje oz. sanacija opuščenih vinogradov, saj so ti lahko vir okužbe z FD in mesto za nemoteno razmnožuje ameriškega škržatka.

Potrebno bo intenzivirati monitoring in zatiranje ameriškega škržatka, saj je ta prenašalec zelo pomemben pri strategiji preprečevanja širjenja zlate trsne rumenice. Če želimo preprečiti gospodarsko škodo, bo potrebno intenzivirati tudi posebni nadzor trsnih rumenic, zlasti vzorčenje sumljivih trt v vinogradih.

5 LITERATURA

- Duduk B., Botti S., Ivanović M., Dukić N., Bertaccini A., 2003.- Molecular characterization of a "flavescence dorée" phytoplasma infecting grapevine in Serbia, pp. 91-92. In: 14th ICVG meeting, September 12-17, Locorotondo (BA), Italy.
- Filipin, L., Jović, J., Forte, V., Cvrković, T., Toševski, I., E., Borgo, M., in Angelini E., 2007. Occurrence and diversity of phytoplasmas detected in clematis and their relationship with grapevine "flavescence dorée" phytoplasmas. *Bulletin of Insectology*, 60 (2), p. 327-328.
- Filipin, L., Jović, J., Cvrković, T., Forte, V., Clair D., Toševski, I., Boudon-Padieu, E., Borgo, M., in Angelini E., 2009. Molecular characteristics of phytoplasmas associated with Flavescence dorée in clematis and grapevine and preliminary results on the role of *Dictyophara europaea* as a vector. *Plant Pathology*, 1-12.
- Gugerli P., Besse S., Colombi L., Ramel M.-E., Rigotti S., Cazelles O., 2006.- First outbreak of "flavescence dorée" (FD) in Swiss vineyards, pp. 96-98. In: Extended abstracts of the 15th meeting of the international council for the study of virus and virus-like diseases of the grapevine (ICVG), SASEV, Stellenbosch, South Africa.
- Lukman, M., Grando, Z., Štolfa, D., Benko, A. 2008. Poročilo fitosanitarne inšpekcije o posebnem nadzoru trsnih rumenic v letu 2008. 5 s.
- Maixner M., 1994. Transmission of German grapevine yellows by the planthopper *Hyalesthes obsoletus*.- *Vitis*, 33: 103-104.
- Miklavc, M., Mešl, M., Matko, B., 2008. Poročilo o opravljenem delu na nalogi identifikacije potencialnih prenašalcev trsnih rumenic na vinski trti in tehnološki ukrepi za zmanjšanje pojava trsnih rumenic v podravski vinorodni deželi v letu 2008. 14 s.
- Odločba št. 327-01-439/2004-5 z dne 15. 6. 2006 o razmejitvi območij napada in ukrepih za zatiranje zlate trsne rumenice (fitoplazma Grapevine flavescence dorée). Fitosanitarna uprava RS, 2006.
- Odločba št. 327-01-439/2005-10 z dne 4. 6. 2007 o spremembi odločbe o razmejitvi območij napada in ukrepih za zatiranje zlate trsne rumenice (fitoplazma Grapevine flavescence dorée). Fitosanitarna uprava RS, 2007.

- Odločba št. 327-01-439/2005-13 z dne 3.10.2007 o spremembi odločbe o razmejitvi območij napada in ukrepih za zatiranje zlate trsne rumenice (fitoplazma *Grapevine flavescence dorée*). Fitosanitarna uprava RS, 2007.
- Odločba št. 327-01-439/2005-16 z dne 24.12.2008 o spremembi odločbe o razmejitvi območij napada in ukrepih za zatiranje zlate trsne rumenice (fitoplazma *Grapevine flavescence dorée*). Fitosanitarna uprava RS, 2008.
- Palermo, S., Elekes, M., Botti, S., Ember, I., Alma, A., Orosz, A., Bertaccini, A. and Kolber, M., 2004. Presence of stolbur phytoplasma in Cixiidae in Hungarian vineyards. *Vitis* 43(4): 201-203.
- Poročilo o posebnem nadzoru trsnih rumenic za obdobje 2002 do 2004. Fitosanitarna uprava RS, 2004.
- Poročilo o posebnem nadzoru trsnih rumenic v letu 2005. Fitosanitarna uprava RS, 2005.
- Poročilo o posebnem nadzoru trsnih rumenic v letu 2006. Fitosanitarna uprava RS, 2006.
- Poročilo o posebnem nadzoru trsnih rumenic v letu 2007. Fitosanitarna uprava RS, 2007.
- Poročilo o posebnem nadzoru trsnih rumenic v letu 2008. Fitosanitarna uprava RS, 2008.
- Ravnikar, M., Mehle, N., Dreo, T., Boben, J., Tušek Žnidarič, M., Dermastia, M., Camloh, M. Prezelj, N., Pirc, M., Skubic, J., Nikolić, P., Šuštaršič, M., Prijatelj Novak, Š., Blatnik, A., Matičič, L., Mihevc, A. Program strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin: diagnosticiranje bakterijskih in virusnih bolezni: končno poročilo o opravljenem delu na strokovni nalogi za leto 2008. Ljubljana: Nacionalni inštitut za biologijo, 2009. 182 f.
- Rodič, K. 2008. Podatki o lokacijah in številu ulovljenih ameriških škržatov za območje KGZ Zavod Novo mesto. Fitosanitarna uprava RS, 3 s.
- Seljak G. 1985: Cikada *Scaphoideus titanus* Ball (= *S. littoralis* Ball) u primorskem vinogradarskom rajonu zapadne Slovenije. *Glasnik zaštite bilja* VIII (2): 33-37.
- Seljak, G., (1987): *Scaphoideus titanus* Ball (= *S. littoralis* Ball), novi štetnik vinove loze u Jugoslaviji [*Scaphoideus titanus* Ball (= *S. littoralis* Ball) ein neuer Schädling der Weinrebe in Jugoslawien]. *Zaštita bilja* 38 (4), št. 182: 349-357.
- Seljak, G., 1991: Je nova bolezen vinske trte na Primorskem 'zlata trsna rumenica'? : *Sad* II (4): 16-19.
- Seljak, G., 1993: Škodljivi škržati vinske trte; ameriški škržat (*Scaphoideus titanus* Ball): *SAD* IV (4): 9-11.
- Seljak, G.; Orešek, E., 2007: Prvi pojavi zlate trsne rumenice v Sloveniji: Kako naprej? [First occurrence of *Grapevine flavescence dorée* in Slovenia. How to proceed?]. 8. slovensko posvetovanje o varstvu rastlin, 6-7. marec 2007, Radenci. Zbornik predavanj in referatov. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2007; 144 - 151.
- Seljak, G., 2008: Distribution of *Scaphoideus titanus* Ball in Slovenia: its new significance after the first occurrence of grapevine "flavescence dorée". *Bulletin of Insectology* 61 (1); 2001-2002.
- Škerlavaj, V., Koruza, B., Matis, G., Urek, G. 1997. Razširjenost zlate trsne rumenice (*Flavescence dorée*) v Sloveniji. Zbornik. 3. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Portorož, 1997: 71-78.

REZULTATI IZVAJANJA UKREPOV ZA ZATIRANJE ZLATE TRSNE RUMENICE NA KOPRSKEM

Anita BENKO BELOGLAVEC¹, Zdenko GRANDO², Darja ŠTOLFA³, Milan LUKMAN⁴,
Radovan LIČEN⁵

^{1,2,3,4,5}Ministrstvo za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano, Inšpektorat RS za kmetijstvo,
gozdarstvo in hrano, Fitosanitarna inšpekcija

IZVLEČEK

Sistematični nadzor trsnih rumenic (Grapevine yellows) v Sloveniji izvajamo od leta 2002. V okviru tega je bila leta 2005 prvič potrjena zlata trsna rumenica (povzročitelj Grapevine flavescence dorée phytoplasma – FD) na lokaciji Purissima, v bližini Ankarana na Koprskem (Seljak, 2007). Z namenom preprečevanja širjenja in zatiranja FD so bili z odločbo Fitosanitarne uprave predpisani fitosanitarni ukrepi v razmejenem območju, to je v žarišču napada in pripadajočem 5 kilometrskem varnostnem območju. V skladu s to odločbo je fitosanitarna inšpekcija izvajala vizualne preglede vinogradov na razmejenem območju ter vzorčila rastline z znamenji okužbe trsnih rumenic. Na podlagi vzorčenj rastlin v 5 kilometrskem varnostnem pasu sta bili v letu 2006 ugotovljeni še dve žarišči: nad Ankaranom in Debelim rtičem (Seljak, 2007). V letu 2007 je bila FD potrjena v vzorcu, ki je bil odvzet izven razmejenega območja, v bližini Dragonje, na lokaciji Koštabona. V žariščih okužbe so bile odstranjene vse rastline vinske trte z znamenji okužbe trsnih rumenic. Fitosanitarni inšpektorji so nadzirali izvajanje ukrepov zatiranja ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*) na razmejenem območju, tudi s pregledovanjem rumenih lepljivih plošč. V prispevku so predstavljeni rezultati nadzora v letih 2006 do 2008, ki kažejo na zmanjševanje števila rastlin vinske trte z znamenji okužbe trsnih rumenic v žariščih, že v drugem letu po uvedbi ukrepov.

Ključne besede: ameriški škržatek, Koprsko, ukrepi, vinska trta, zlata trsna rumenica

RESULTS OF IMPLEMENTED MEASURES FOR SUPPRESSION OF GRAPEVINE FLAVESCENCE DORÉE PHYTOPLASMA

ABSTRACT

The survey of Grapevine yellows has been carried out in Slovenia since 2002. During the survey a Grapevine flavescence dorée phytoplasma (FD) was confirmed in 2005 in Ankarana, South-west Slovenia (Seljak, 2007). With the aim to eradicate and prevent the spreading of FD, the Phytosanitary administration of the Republic of Slovenia adopted a decision which established phytosanitary measures in the focus and inside the five-kilometre buffer zone. On the basis of this decision, phytosanitary inspectors visually inspected all vineyards in the infected area and took samples from plants showing symptoms of Grapevine yellows. As a consequence of sampling symptomatic vine plants in the five-kilometre buffer zone in 2006, two new foci were identified: near Ankarana and Debeli rtič (Seljak, 2007) and in 2007 towards the Croatian border the focus Koštabona. All vine plants in foci showing symptoms of grapevine yellows were eliminated. Phytosanitary inspectors supervised the implementation

¹ univ. dipl. inž. agr., Parmova 33, SI-1000 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., Vojkovo nabrežje 38, SI-6000 Koper

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ univ. dipl. inž. agr., Ormoška cesta, 3/II, SI-9240 Ljutomer

⁵ univ. dipl. inž. agr., Vrtojba, SI-5290 Šempeter pri Gorici

of obligatory treatments against the vector *Scaphoideus titanus* Ball, also with a control of yellow sticky traps. The paper presents the results of the survey carried out in the period 2006 - 2008. The results show a decrease in the number of symptomatic plants with Grapevine yellows already in the second year after the implementation of phytosanitary measures.

Key words: control measures, flavescence dorée, grapevine, Koprsko, *Scaphoideus titanus*

1 UVOD

Od leta 2002 izvajamo v Sloveniji posebni nadzor trsnih rumenic, z namenom ugotavljanja njihove zastopanosti in razširjenosti, predvsem zlate trsne rumenice (povzročitelj fitoplazma Grapevine flavescence dorée phytoplasma) - FD, ki je razvrščena na seznam II.A.II Direktive Sveta 2000/29/ES in je zato obravnavana v vseh državah Skupnosti kot nadzorovan karantenski škodljiv organizem. V Sloveniji je bila FD prvič potrjena poleti 2005 na Purissimi nad Spodnjimi Škofijami pri Koprju, na sorti Sivi pinot (Seljak, 2007). V letu 2006 je Fitosanitarna uprava RS (FURS) izdala odločbo o razmejitvi območij napada in ukrepov za zatiranje zlate trsne rumenice, št. 327-01-439/2004-5 z dne 15.6.2006. Odločba je opredelila razmejeno območje, ki obsega:

- žarišče okužbe (ŽN) je vinograd s potrjeno najdbo, in vsi ostali vinogradi v polmeru do 1 km od centroida središčnega vinograda in
- varnostno območje (VO), ki je pas med najmanj 1 km in 5 km okoli žarišča napada.

Z odločbo so bili predpisani fitosanitarni ukrepi za eradikacijo FD. Fitosanitarna inšpekcija je v razmejenem območju opravljala nadzor izvedbe predpisanih ukrepov in opravljala vizualne preglede rastlin vinske trte na trsne rumenice. V okviru nadzora so bili v letu 2006 odvzeti vzorci vinske trte in na podlagi laboratorijskih testiranj, ki so bili opravljani na Nacionalnem inštitutu za biologijo, je bila v 5 kilometrskem pasu potrjena FD še na dveh lokacijah, in sicer nad Ankaranom (sorta Chardonnay) in na Debelem rtiču (sorta Malvazija) (Seljak, 2007). V letu 2007 je bilo potrjeno novo žarišče FD pri Koštaboni, nad Dragonjo, na neznani sorti. Skladno z novimi potrditvami navzočnosti FD je bila spremenjena odločba in razglašena nova žarišča ter pripadajoča varnostna območja.

2 MATERIAL IN METODE

Z odločbo FURS so bili predpisani fitosanitarni ukrepi: prepoved premeščanja rastlin vinske trte (v ŽN), vzorčenje posameznih rastlin vinske trte in ugotavljanje FD (v ŽN in VO), spremljanje ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*) in njegovo zatiranje po napovedi opazovalno-napovedovalne službe za varstvo rastlin, v skladu s tehnološkimi navodili (v ŽN in VO), odstranitev rastlin vinske trte z znamenji okužbe, na podlagi vizualnega pregleda (v ŽN), odstranitev rastlin vinske trte z znamenji okužbe, pri katerih je z laboratorijsko analizo ugotovljena okužba s FD (v VO). Fitosanitarna inšpekcija je preverila izvajanje ukrepov iz odločbe in zastopanost trsnih rumenic pri vseh registriranih pridelovalcih grozdja in vina v žariščih ter nekaterih neregistriranih in pri 5-10% pridelovalcev v varnostnem območju.

2.1 Nadzor izvedbe predpisanega zatiranja ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*) in spremljanje njegove razširjenosti

V skladu s tehnološkim navodilom se v proizvodnih vinogradih v razmejenem območju izvede dve tretiranji z registriranimi insekticidi. Prvo tretiranje naj bi bilo izvedeno sredi junija, proti ličinkam in nimfam ameriškega škržatka, drugo tretiranje pa v začetku julija proti nimfam in prvim odraslim škržatkom. Natančnejše roke je določila opazovalno napovedovalna služba. V matičnih vinogradih, matičnjakih in trsnicah se izvede tri tretiranja. Fitosanitarna inšpekcija je preverjala izvedbo tretiranj po 1. oziroma 2. tretiranju, na podlagi evidenc o

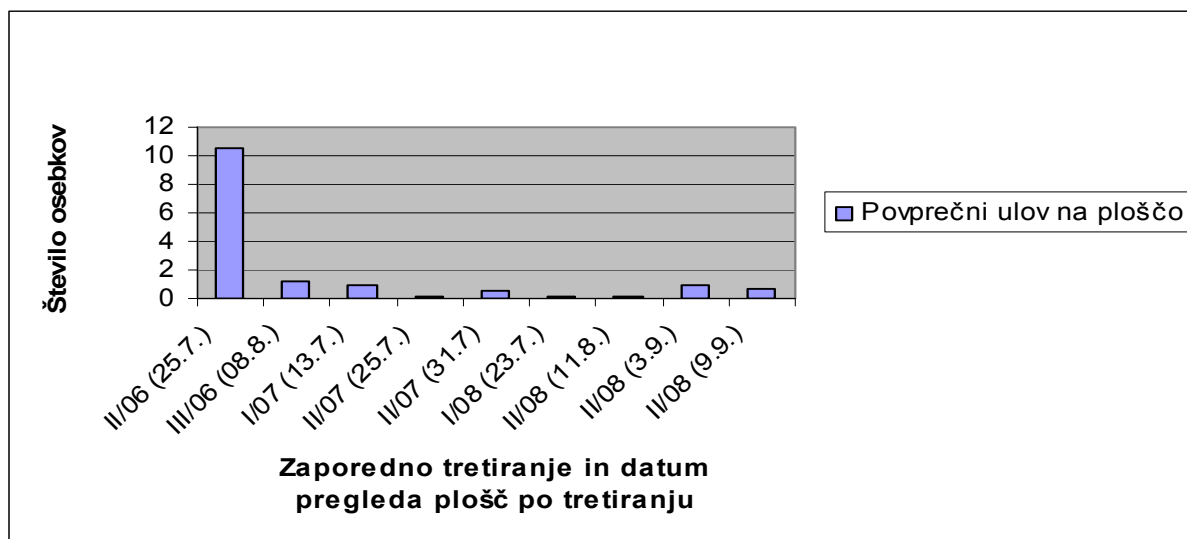
uporabi FFS, računov o nabavi, prazne embalaže in ulova ameriškega škržatka na rumene lepljive plošče (velikosti 17 x 23,5 cm). Ulov ameriškega škržatka smo na ploščah preverjali v drugi polovici julija in začetku avgusta ter ponekod v septembru, z namenom preverjanja izvedbe tretiranja in ne statistične obdelave. Plošče je postavil imetnik ali fitosanitarni inšpektor, njihovo število je bilo odvisno od velikosti vinograda. V vinogradih, manjših od 2 hektarov, smo izobesili vsaj tri rumene plošče na različna mesta, v večjih vinogradih vsaj eno ploščo na hektar vinograda, v kompleksu 35 ha vinogradov manj kot 1 rumeno ploščo na ha. Postavljene so bile med žicama.

2.2 Vzorčenje posameznih rastlin vinske trte in ugotavljanje okužb FD

Vizualno je bilo pregledanih približno 418 ha vinogradov v letu 2006 (440 ha v 2007, 620 ha v 2008) na trsne rumenice. Pregledana površina se je večala skladno z odkrivanjem novih žarišč. V ŽN smo vzorčili trse z znamenji trsnih rumenic naključno, zaradi preverjanja obstoja FD, saj je predpisana odstranitev že na podlagi vizualnega pregleda. V VO smo vzorčili vse rastline z znamenji trsnih rumenic in na podlagi teh vzorčenj ugotovili še dve novi ŽN (Ankaran in Debeli rtič). Vzorce smo odvzeli v času od začetka julija do oktobra in sicer pri trsih, ki so kazali očitna znamenja trsnih rumenic, kot tudi pri tistih, kjer smo bili na podlagi vizualnega pregleda v dvomih o njihovem obstoju.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Ameriškega škržatka smo natančneje spremljali na večjem posestvu v žarišču okužb (35 ha v letu 2006, 45 ha v letih 2007-08). Kot je razvidno iz slike 1 je bilo število osebkov po 2. tretiranju z azadirahinom A v povprečju 10,6 osebkov na rumeno lepljivo ploščo in se je drastično zmanjšalo po tretjem tretiranju, ki je bilo izvedeno s klorpirifos-metilom (1,25 osebkov/ploščo). Pomembno je omeniti, da pridelovalec že približno 10 let ni uporabil insekticidov za zatiranje grozdnega sukača. Povprečno število osebkov na ploščo ni preseglo 1,0 v letih 2007 in 2008.

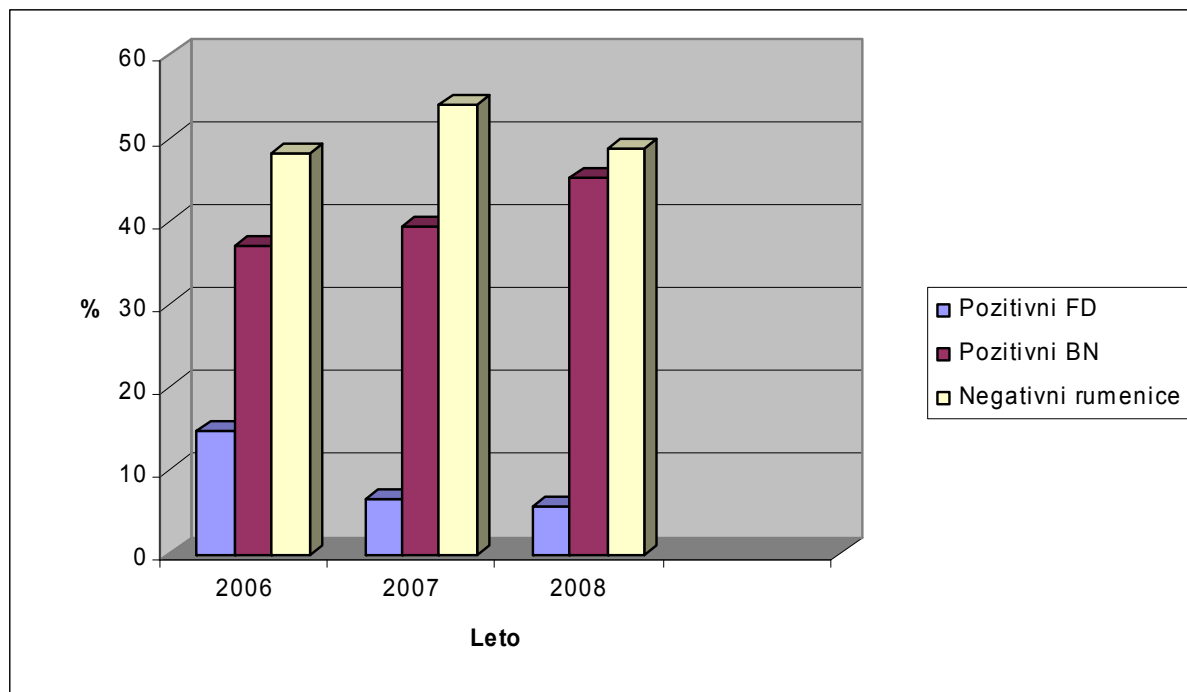


Slika 1: Povprečni ulov ameriškega škržatka na rumeno lepljivo ploščo po izvedenem tretiranju.

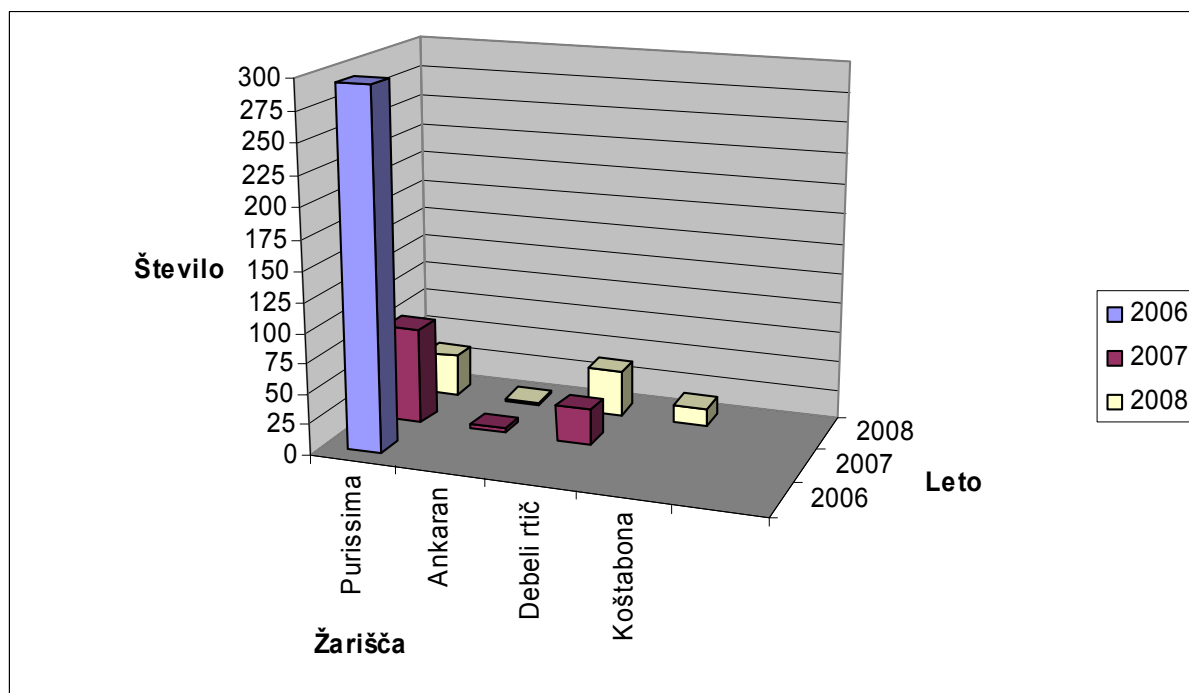
Figure 1: Average capture of *Scaphoideus titanus* on yellow sticky traps after treatment.

Fitosanitarni inšpektorji so vzorčili trse z znamenji rumenic v razmejenih območjih in širši okolici na Koprskem. Ne glede na to, da so bili odvzeti vzorci le s trsov, na katerih so bila bolj ali manj izražena znamenja trsnih rumenic, je delež vzorcev pozitivnih na FD le 14,8% v letu 2006, 6,6% v letu 2007 in 5,8% v letu 2008 (Slika 2). Delež negativnih vzorcev testiranih

na trsne rumenice je 48% v letih 2006 in 2008 ter 54% v 2007, kar potrjuje ugotovitve fitosanitarnih inšpektorjev o zahtevnosti prepoznavanja trsnih rumenic. Znatno nižji delež pri pozitivnih vzorcih predstavljajo vzorci s FD, v primerjavi z vzorci, v katerih je bila dokazana rumenica počrnelosti lesa vinske trte (povzročitelj fitoplazma Grapevine Bois noir) – BN. Vizualno namreč ni mogoče ločiti FD od BN.



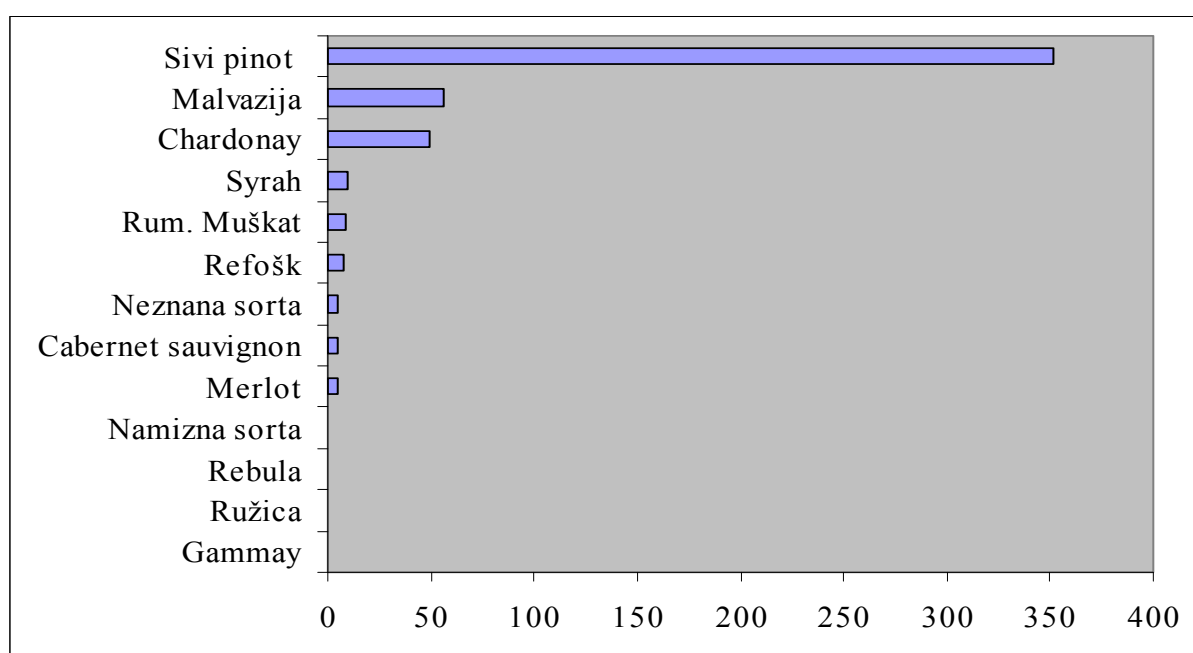
Slika 2: Rezultati testiranj na trsne rumenice.
Figure 2: Results of testing on grapevine yellows.



Slika 3: Število trsov z znamenji trsnih rumenic v žariščih, po letih.
Figure 3: Number of grapevines in foci with symptoms of grapevine yellows (in years).

Iz slike 3 je razvidno, da se je število trsov, pri katerih so bila pri vizualnem pregledu opažena znamenja trsnih rumenic, najbolj zmanjšalo v žarišču Purissima (295 trsov v letu 2006, 80 v 2007 in 35 v 2008) ter Ankaran (4 trsi v 2007, 2 v 2008). V žarišču Debeli rtič se je število trsov z bolezenskimi znamenji v letu 2008 (38) nekoliko povečalo v primerjavi z letom 2007 (29), saj so bila bolezenska znamenja v letu 2007 prikrita zaradi napada trtne uši (*Dactulosphaira vitifoliae* Fitch). Rezultati nadzora v letih 2006 do 2008 tako kažejo na zmanjševanje števila rastlin vinske trte z znamenji okužb trsnih rumenic v žariščih, že v drugem letu po uvedbi ukrepov.

Na podlagi testiranja rastlin z znamenji rumenic ugotavljamo, da so trsi s FD v posameznih žariščih omejeni na eno lokacijo v vsakem žarišču, saj so v štirih žariščih ugotovljene okužbe le v štirih vinogradih. Prav tako ugotavljamo omejen pojav FD tudi v posameznem vinogradu, saj so bili trsi s FD potrjeni v krogu približno 100 m (Debeli rtič), 50 m (Purissima), 5 m (Koštabona) in v Ankaranu le en trs.



Slika 4: Število trsov z znamenji trsnih rumenic v žariščih med leti 2006-2008, po sortah.

Figure 4: Number of grapevines per variety in foci with symptoms of grapevine yellows between 2006-2008.

Največ trsov z znamenji rumenic je bilo na sorti Sivi pinot (352), sledi Malvazija (56), Chardonay (49) in Syrah (10).

4 SKLEPI

FD je bila prvič potrjena leta 2005. Posledično smo zato povečali število pregledov in vzorčenj in do leta 2008 je bila potrjen pojav FD na štirih lokacijah, v omejenem obsegu v posameznem žarišču okužbe. Prav tako ugotavljamo omejen pojav FD tudi v posameznem vinogradu, saj so bili trsi s FD potrjeni v krogu od 5-100m. V ŽN Purissima in Ankararan v letih 2007 in 2008 ni bil potrjen pojav FD v analiziranih vzorcih. Glede na nizko število osebkov ameriškega škržatka na rumenih ploščah že po 1. tretiranju bi bilo smiselno preučiti možnosti o enkratnem tretiranju v proizvodnih vinogradih. Zato pa je pomembno redno spremljanje naleta škržatka po območjih Slovenije, z namenom napovedi optimalnega časa tretiranja.

5 ZAHVALA

Zahvala gre mag. Gabrijelu Seljaku za strokovne nasvete in pomoč pri določanju osebkov škržatka, ter kolegicam iz Nacionalnega inštituta za biologijo ter iz Fitosanitarne uprave RS. Pri začetnih dilemah nam je priskočil na pomoč kolega z izkušnjami dr. Carlo Frausin iz fitosanitarne službe iz Furlanije Julijske Krajine (Italija).

6 LITERATURA

- Carraro, L., 2004. Flavescenza dorata e giallumi della vite: Recenti conoscenze. Supplemento Notiziario ERSA, N5-6, Friuli Venezia Giulia, Dicembre 2004:3-7.
- Direktiva Sveta 2000/29/EC z dne 8. maja 2000 o varstvenih ukrepih proti vnosu organizmov, škodljivih za rastline ali rastlinske proizvode, v Skupnost in proti njihovemu širjenju v Skupnost (UL L 169, 10.07.2000).
- http://www.ersa.fvg.it/argomenti/viticultura/copy_of_patologia.
- <http://www.eppo.org/QUARANTINE/quarantine.htm>, last updated 4.5.2009.
- FURS, 2006. Odločba o razmejitvi območij napada in ukrepih za zatiranje zlate trsne rumenice, št. 327-01-439/2004-5 z dne 15.6.2006.
- FURS, 2007. Odločba o spremembi odločbe o razmejitvi območij napada in ukrepih za zatiranje zlate trsne rumenice št.327-01-439/2005-10 z dne 4.6.2007.
- FURS, 2007. Odločba o spremembi odločbe o razmejitvi območij napada in ukrepih za zatiranje zlate trsne rumenice št. 327-01-439/2005-13, z dne 3.10.2007.
- Malossini, G. et al., 2004. Flavescenza dorata della vite. Supplemento Notiziario ERSA, N5-6, Friuli Venezia Giulia, Dicembre 2004: 23-32.
- Pavan, F. et al., 2004. Efficacia della lotta insetticida contro *Scaphoideus titanus* Ball in Friuli Venezia Giulia. Supplemento Notiziario ERSA, N5-6, Friuli Venezia Giulia, Dicembre 2004: 11-21.
- Seljak, G., Orešek, E., 2007. Prvi pojavi zlate trsne rumenice v Sloveniji: kako naprej? Zbornik predavanj in referatov 8. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Nova Gorica, 4. – 5. marec 2009. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2007:144-151.

IZKUŠNJE PRI BIOTIČNEM ZATIRANJU POLJSKEGA MAJSKEGA HROŠČA (*Melolontha melolontha* L.) Z GLIVO *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch, 1924

Anka POŽENEL¹, Mojca ROT²

^{1,2} Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica

IZVLEČEK

Predstavljena je prerazmnožitev poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.) na Idrijskem od leta 2002 do leta 2008. V letu 2002 je poprečno 100 ogrcev na m² v stadiju 3. levitve (L₃) popolnoma uničilo travno rušo na 370 ha travnikov. Populacija škodljivca je v letu 2004 v novem ciklusu po izleganju jajčec še narasla. Na vseh travnikih je bilo v letu 2005 poprečno 226 ogrcev/m² (L₂), kar je povzročilo uničenje travne ruše na 760 ha travnikov oziroma na 62 % vseh kmetijskih zemljišč na območju. Po uspešnem poskusnem tretiranju 92 ha travnikov z entomopatogeno glivo *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch, 1924, smo v letu 2007 začeli izvajati program sistematičnega zatiranja poljskega majskega hrošča, ki ga je finančno podprlo MKGP, Fitosanitarna uprava Republike Slovenije. Biotično zatiranje z glivo *Beauveria brongniartii* je bilo izvedeno jeseni 2007 na 286 ha in v letu 2008 na 564 ha. Pred začetkom biotičnega zatiranja smo v Zadlogu našli poprečno 85,8 ogrcev/m² (L₂), leto dni kasneje pa 21,1 ogrcev/m². Na travnikih tretiranih z glivo *Beauveria brongniartii* se je število ogrcev zmanjšalo za 75,4 %.

Ključne besede: *Beauveria brongniartii*, *Melolontha melolontha*, ogrci, poljski majski hrošč, poškodovani travniki

ABSTRACT

EXPERIENCES IN THE BIOLOGICAL CONTROL OF COMMON COCKCHAFFER (*Melolontha melolontha* L.) USING *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch, 1924

An outbreak of the Common Cockchafer (*Melolontha melolontha* L.) in Idrija region during 2002 and 2008 is reported. In 2002 the third larval stage of cockchafer by average of 100 grubs per m² completely damaged 370 ha of grasslands. In 2004 after eggs deposition the population increased on. In 2005 an average of 226 grubs per m² was observed in region. 760 ha of grasslands were damaged, that represents 62% of all agricultural land in the region. After the successfully preliminary testing of entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch, 1924 on 92 ha of grasslands in 2005 in 2007 we started the programme for systematic suppression of the Common Cockchafer (*Melolontha melolontha* L.), supported by Ministry of Agriculture, Phytosanitary Administration of the Republic of Slovenia. Biological control of *Melolontha melolontha* by entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii* started in autumn 2007 on 286 ha of grasslands and was continuing in 2008 on 564 ha. Before the treatment an average of 85,8 grubs per m² was observed in Zadlog, one year later only 21,1 grubs per m² were counted. The total decrease in number of grubs on treated area was 75,4 %.

Key words: *Beauveria brongniartii*, Common cockchafer, damaged grasslands, *Melolontha melolontha*, white grubs

¹ univ. dipl. inž. agr., Goriška c. 23b, SI-5270 Ajdovščina

² univ. dipl. inž. agr., Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica

1 UVOD

Populacija poljskega majskega hrošča ima v Sloveniji triletni razvojni krog z različnim zaporedjem pojavljanja na različnih območjih (Janežič, 1958; Vrabl, 1992). Sedanja populacija ogrcev na Idrijskem je množično potomstvo imagoz z zaporedjem pojavljanja III₀. To se sklada tudi z ugotovitvami Ureka in Milevojeve (1993) ob množičnem pojavu škode po ogrcih v Logatcu leta 1993. Na Idrijskem je bil let odraslih hroščev v letih 2001, 2004 in 2007, ponoven let pa pričakujemo v letu 2010. Poljski majski hrošč (*Melolontha melolontha* L.) je dokaj pogost škodljivec na naših travnikih, čeprav obsežnejših škod v zadnjih desetletjih ni opisanih.

Na območju Zadloga so se škode zaradi ogrcev pojavljale že v tridesetih in petdesetih letih prejšnjega stoletja. Za razvoj jajčec so očitno ugodna tukajšnja rahla humozna srednje globoka evtrična rjava tla na reliktnem meljasto glinastem aluviju. V "hroščevih letih" 1932 in 1935, ter v letu 1953 so organizirano zatirali odrasle hrošče z otresanjem, pobiranjem in parjenjem. Populacijo odraslih majskih hroščev je najbolj zmanjšal pozno spomladanski sneg in zmrzal v maju leta 1956.

V novejšem času je bil poljski majski hrošč (*Melolontha melolontha* L.) na Idrijskem prvič opazen v letu 2001, ko so odrasli hrošči objedali listje gozdnega drevja v gozdovih, ki obkrožajo vasi Zadlog in Idrijski log. Bolj opazna je postala škoda v letu 2002 in 2003, ko je poprečno 100 ogrcev na m² v stadiju 3. levitve (L₃) popolnoma uničilo travno rušo na 370 ha travnikov. V letu 2004 so spet delali škodo na drevju odrasli osebki. Po izleganju jajčec je populacija narasla na več kot 200 ogrcev na m². Ogrci so že v letu 2004 v stadiju 1. levitve (L₁) in 2. levitve (L₂) poškodovali travno rušo do 50 % (Poženel, 2007). Na vseh travnih površinah je bilo spomladi v letu 2005 poprečno 226 ogrcev na m² v stadiju 2. levitve (L₂). Po junijski levitvi so ogrci v stadiju 3. levitve s požrešnim hranjenjem povzročili uničenje travne ruše na 760 ha travnikov oziroma na 62% vseh kmetijskih zemljišč na območju krajevnih skupnosti Črni vrh nad Idrijo in Godovič. V celotni Sloveniji je bila v letu 2005 opažena škoda še na območju Logatca in v občini Lenart, skupaj na okrog 1000 ha. V letu 2007 po ponovnem letu odraslih majskih hroščev se je pokazala razlika v številčnosti populacije med z gozdom delno ločenima planotama Zadlog in Črni vrh. V Zadlogu se je na zelenih travnikih že opazilo zmanjšanje populacije kot posledica prizadevanj pri mehanskem, kemičnem in biotičnem zatiranju. V Črnem vrhu in Predgrizah pa je populacija škodljivca še narasla, tako da je bila travna ruša na okrog 15 ha popolnoma pojedena. Na teh površinah v preteklih letih niso bili izvedeni nikakršni ukrepi zatiranja.

Širše območje prerazmnožitve poljskega majskega hrošča na Črnovrški planoti je kraška planota obdana z gozdom poraslimi hribi na nadmorski višini 650 do 750 m. Planota je širše vodovarstveno območje s propustnimi tlemi nad vodnimi viri mesta Idrija, kar narekuje posebno previdnost pri uporabi kemičnih sredstev za zatiranje.

Občutljivost območja je tudi privedla do odločitve o uporabi entomopatogene glive *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch, 1924 za zatiranje. Spada v skupino višjih gliv, deblo Deuteromycota (Fungi imperfecti), razred Hyphomycetes (Lacey in sod., 2001). Glavna značilnost predstavnikov tega debela je tvorba micelija, ki na posebnih konidiogenih celicah nosi nespodne spore (konidije).

Konidiji večine entomopatogenih gliv razreda Hyphomycetes se trdno pritrdijo na kutikulo žuželke - gostitelja. Po vzpostavitvi stika med hifo in ogrcem, poteče kalitev in tvorba struktur, ki omogočajo prodiranje skozi kutikulo. Gliva se širi s hifami in poskuša premagovati obrambne mehanizme gostitelja. Smrt gostitelja nastopi zaradi prekinitve dovoda hranil, fizičnih ovir in z izločanjem toksinov npr. beauvericin pri glivi *B. brongniartii*. Po smrti gostitelja micelij glive v ugodnih razmerah izrašča iz kadavra, oblikuje konidiogene

celice, sledi sporulacija na površini odmrlega organizma in sproščanje konidijev v okolico. Pri širjenju konidijev sodelujejo različni prenašalci, kot so dež, veter, žuželke (Boucias in sod., 1988, 1991).

2 MATERIAL IN METODE

Na podlagi pozitivnih izkušenj pri poskusnem tretiranju 92 ha travnikov z entomopatogeno glivo *Beauveria brongniartii* pri nas in v tujini (Keller in Brenner, 2005; Poženeš, 2007) smo jeseni 2007 začeli izvajati sistematično zatiranja poljskega majskega hrošča, ki ga je finančno podprlo Ministrstvo za kmetijstvo oziroma Fitosanitarna uprava Republike Slovenije. Sprejeta je bila »Uredba o izvedbi ukrepov za preprečevanje širjenja in zatiranje množičnega izbruha poljskega majskega hrošča« in na njeni podlagi tudi program izvedbe zatiranja z *B. brongniartii* v občinah Idrija in Logatec na preko 500 ha površin v split aplikaciji.

Program izvedbe zatiranja smo začeli v začetku septembra 2007 v Zadlogu v občini Idrija, na območju z največjo številčnostjo ogrcev poljskega majskega hrošča. V tla smo vnasli glivo *B. brongniartii*, ki jo proizvajajo v Avstriji in Italiji kot pripravek MELOCONT® - Pilzgerste.

Specifičen sev glive je nanešen na sterilizirana zrna ječmena. Gliva živi na zrnih ječmena, dokler ne najde ciljnih organizmov ogrcev v tleh, jih okuži, se na njih razvija in se ohranja v tleh. Ječmenasto glivo smo vnesli v tla s posebnimi sejalnicami za vsejavanje v travno rušo (Vredo). Setvena razdalja je bila 7,5 x 10 cm, globina vsejavnja pa okrog 5 cm. V tla smo vsejali 40 kg/ha pripravka MELOCONT® - Pilzgerste. Ogrci so bili v stadiju L₂. Temperatura tal je bila okrog 15° C, tla pa so bila ves čas vlažna, kar je za razvoj glive ugodno (Kessler in sod., 2003). Aplikacijo smo v Zadlogu in Idrijskem logu izvedli na 286 ha travnikov, kar predstavlja okrog 43 % vseh površin.

Monitoring številčnosti ogrcev smo izvedli pred pričetkom vsejavanja v Zadlogu v avgustu 2007 na travnikih, kjer aplikacija glive *B. brongniarii* še ni bila nikoli izvedena. Po metodi Goettingerjevega okvirja smo izkopali zemljo na 1/4 m² in prešteli ogrce. Po preteku enega leta smo v avgustu 2008 monitoring ponovili na vsejanih površinah in na kontrolnih površinah, kjer glive *B. brongniartii* nismo vsejavali. Izkope smo opravili enakomerno razporejene po celotnem območju Zadloga, da bi čimbolje preverili stanje številčnosti ogrcev na območju. Točke izkopov smo posneli tudi z GPS napravo in tako opravili tudi prostorsko pozicioniranje stanja.

Biotično zatiranje smo po programu nadaljevali tudi v letu 2008 spomladi na 341 ha travnikov v Logatcu, Hotedršici, Godoviču in Črnem vrhu. Po monitoringu številčnosti ogrcev v Zadlogu v avgustu 2008 smo aplikacijo tam ponovili jeseni na 223 ha travnikov.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

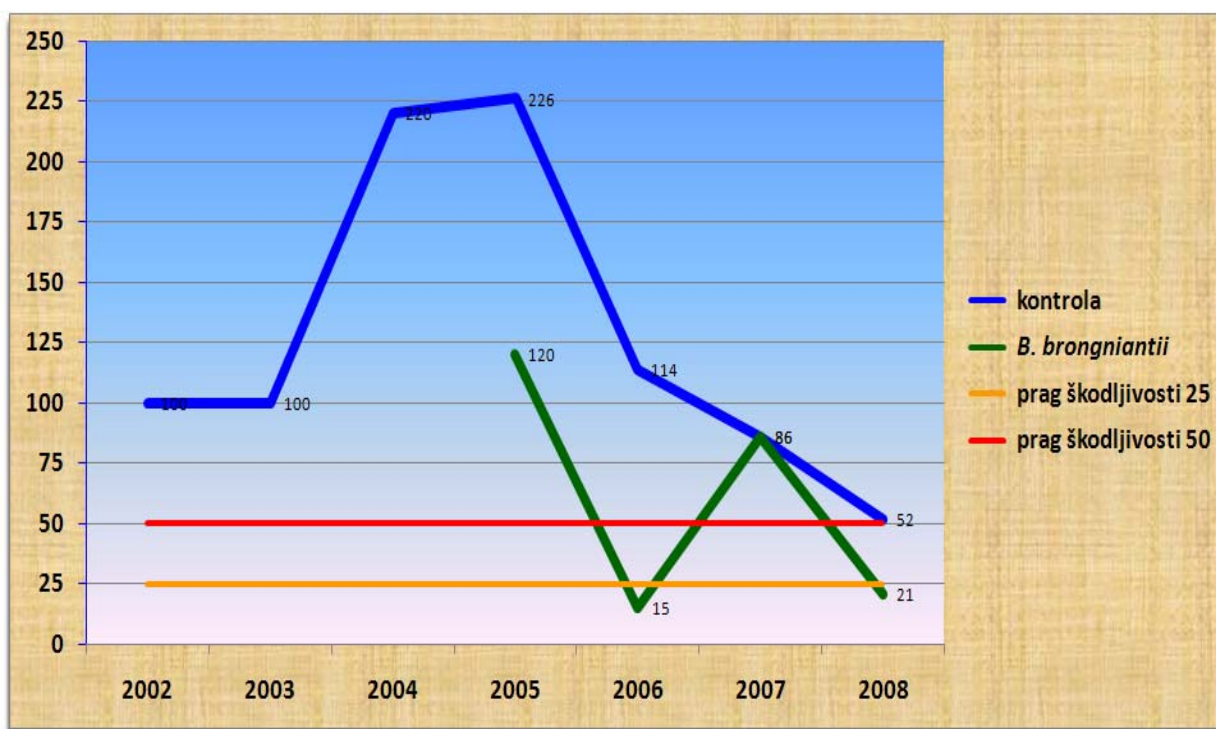
Po vsejavanju pripravka Melocont v jeseni 2007 in v vlažnem letu 2008 smo ugotavljali dobro razraščanje glive *B. brongniartii* v tleh, kar se je še posebej kazalo v številnih kadavrih odmrlih ogrcev preraslih s hifami glive *B. brongniartii*, ki smo jih našli ob monitoringu v avgustu 2008. Opazna je bila tudi razlika v številčnosti ogrcev med tretiranimi travniki in kontrolo.

Pred pričetkom vsejavanja *B. brongniartii* smo našli povprečno 85,8 ogrcev/m² v stadiju L₂, leto dni kasneje pa 21,1 ogrcev/m². Na travnikih tretiranih z glivo *Beauveria brongniartii* se je število ogrcev zmanjšalo za 75,4 % (slika 1). Zmanjšanje števila ogrcev na 21,1 ogrcev/m² pomeni, da je ogrcev manj kot je prag škodljivosti, saj pri tej številčnosti travniki ostajajo zeleni. Na sliki 1 so prikazani podatki tudi od prejšnjih let (Poženeš, 2007), ko se je število ogrcev na tretiranih površinah tudi zmanjšalo pod prag škodljivosti.

Na netretirani kontroli se je število ogrcev med opazovanji zmanjšalo iz 85,8 ogrcev/m² na 52,4 ogrcev/m², kar je 38,9% zmanjšanje. Glavni razlogi naravnega zmanjšanja števila ogrcev so krti, ptice, jazbeci, lisice in druge živali ter kanibalizem in delovanje avtohtone glive *B. brongniartii* v tleh. Številčnost 52,4 ogrcev/m² v tleh pomeni propad travne ruše, saj tako

število ogrcev popolnoma poje koreninski sistem rastlin v travni ruši (prag škodljivosti 50 ogrcev/m²) in je tudi daleč nad pragom škodljivosti 25 ogrcev/m² (glej sliko 1). Naravna populacija škodljivca se postopoma zmanjšuje, kar je posledica vseh ukrepov zatiranja, ki so bili v času od leta 2002 izvedeni, predvsem pa sistematičnemu zatiranju z glivo *B. brongniartii*, ki je zaobseglo največ površin.

Slika 1: Gibanje poprečnega števila ogrcev *Melolontha melolontha* na m² v Zadlogu od leta 2002 do 2008 na netretiranih travnikih in travnikih inokuliranih z *Beauveria brongniartii* s pragovoma škodljivosti
Figure 1: The number of *M. melolontha* L. grubs on treated and untreated plots in years 2002-2008



Za uspešno znižanje populacije *M. melolontha* L. in zmanjšanje škode v naslednjem razvojnem ciklusu je odločilno, da se je in se še bo sistematično zatiranje (biotično, mehansko, kemično) izvedlo na čim večjem deležu travnikov na prizadetem območju.

4 SKLEPI

- Na površinah tretiranih z glivo *Beauveria bringniartii* v letu 2007 se je zmanjšalo število ogrcev po enem letu za 75 % pod prag škodljivosti
- Na netretiranih travnikih je opazen počasen trend zmanjševanja populacije ogrcev, ki pa je še vedno nad pragom škodljivosti; opazno je bilo zmanjšanje števila ogrcev za 39 %
- Gliva je imela v letu 2007 in 2008 optimalne razmere za delovanje saj smo avgusta 2008 našli kadavre ogrcev z *Beauveria bringniartii* na 45 % izkopov
- V avgustu 2007 smo opazili manjše število izleženih ogrcev na površinah tretiranih z *Beauveria bringniartii* v letu 2005

5 ZAHVALA

Za strokovno pomoč in podporo pri reševanju opisane problematike hvala dr. Franciju Celarju iz Biotehniške fakultete v Ljubljani in mag. Vlasti Knapič iz Fitosanitarne uprave RS.

6 LITERATURA

- Keller, S., Brenner, H. 2005. Development of the *Melolontha* populations in the canton Thurgau, eastern Switzerland, over the last 30 years. IOBC/wprs Bulletin 28 (2): 31.
- Kessler, P., Keller, S. 2003. Influence of soil environmental on growth and persistence of *Beauveria brongniartii*. OILB/SROP Bulletin, Dijon, France. 26:1, 99-102.
- Maceljki, M. 1999. Poljoprivredna entomologija. Čakovec, Zrinski: 150 – 152.
- Požnel, A. 2005. Prerazmnožitev poljskega majskega hrošča (*M. melolontha* L.) na Idrijskem. Zbornik predavanj in referatov 7. slo. posv. o varstvu rastl., Zreče, 2005: 476 - 478.
- Požnel, A., Rot, M. 2006: A great increase of population of Common Cockhafer (*Melolontha melolontha* L.) in Idrija region in Slovenia. IOBC /wprs Bulletin, Auer/Ora, Italy. Vol. 30 (7) 2007:109-112
- Požnel, A. 2007. Izkušnje pri zatiranju poljskega majskega hrošča (*M. melolontha* L.) na Idrijskem. Zbornik predavanj in referatov 8. slo. p. o varstvu rastl., Radenci, 2007
- Strasser, H. 1999. Evaluation of the efficacy of the biological agent Melocont Reg. in fungal infected barley to control cockhifers. Forderungsdienst. 47:5, 158-159.
- Valič, V., Milevoj, L. 2004. Poljski majski hrošč. Kmetovalec, 72, 10: 6-9.
- Vrabl, S. 1992. Škodljivci poljščin. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 19 - 22.

NAČINI VAROVANJA KMETIJSKIH ZEMLJIŠČIH PRED PARKLJASTO DIVJADJO IN NJENA ŠKODLJIVOST V ŠALEŠKI DOLINI

Matej VIDRIH¹, Urška SLIVNIK², Žiga LAZNIK³, Stanislav TRDAN⁴

^{1,2,3,4}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko
tehniko, poljedelstvo, travništvo in pašništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

Škoda, ki jo dela divjad vsako leto na kmetijskih zemljiščih v Sloveniji je še vedno previsoka. Na območju Šaleške doline smo v letu 2006 preučevali tipe poškodb po parkljasti divjadi na različnih poljščinah (koruza, krompir), vrtninah in trajnem travinju ter načine varovanja zemljišč, ki so bila varovana. Skupno je bilo na tem območju med junijem in oktobrom opravljenih 99 ogledov kmetijskih zemljišč (travniki, njive, vrtovi). Od tega je bilo opravljenih v občini Šoštanj 37 ogledov, v občini Velenje 46 in 16 ogledov je bilo narejenih v občini Šmartno ob Paki. V juniju je bilo narejenih največ (30) ogledov. Sledijo julij z 27, avgust z 19, september z 17 in oktober s 6 ogledi. V opazovanje je bilo vključenih 179,18 hektarjev zemljišč, ki so bila pred parkljasto divjadjo varovane (12 %) ali pa ne (88 %). Največji odstotek opazovanih zemljišč sta zasedala trajno travinje (50 %) in njive s koruso (49 %), preostanek je odpadel na vrtnine. Med njimi sta največji odstotek predstavljala fižol (22 %) ter krompir (20 %). Sledili so pesa (12 %), ter solata in korenje, vsak z 11 %. Ostale vrtnine so bile zastopane z manj kot 10 %. Kot oblika varovanja so se pojavljale fizične ovire (ograja iz žičnatega pletiva, lesena ograja, ograja iz plastične mreže in plastičnega traku), strašila (vreča, oblačilo, svetlikajoč in barvasti trak) ter psihološka ovira (elektroograja). Odstotek varovanih vrtnin (59 %) je bil relativno večji kot delež njiv s koruso (23 %) in trajnega travinja (0 %), absolutno pa ne. Odstotek njiv s koruso, ki so bile poškodovane zaradi divjega prašiča je bil 8 %. Odstotek zemljišč, ki je bil varovan z elektroograjjo je bil zelo majhen (2,5 %). Za najbolj škodljivo divjad se je pokazal divji prašič (*Sus scrofa* L.), medtem ko srnjad (*Capreolus capreolus* L.) in damjak (*Dama dama* L.) nista bila posebno škodljiva.

Ključne besede: divjad, divji prašič, popis, Šaleška dolina, varovanje kmetijskih zemljišč

ABSTRACT

PROTECTION MEASURES ON AGRICULTURAL LAND AGAINST BIG GAME AND DAMAGE THEY CAUSE IN ŠALEŠKA VALLEY

Damage which is made by big game every year on agricultural land in Slovenia is still too high. We studied in 2006 in the area of Šaleška valley types of crop damage by big game on different field crops (maize, potato), vegetables and permanent grassland and also protection measures of crops if they were used. Between June and October in total 99 surveys of agricultural land (meadows, arable fields, gardens) were made in this area. From 99 surveys, 37 surveys were made in Šoštanj municipality, 46 surveys in Velenje municipality and 16 surveys were made in Šmartno ob Paki municipality. With 30 surveys June was the most observed month. Following were July with 27, August with 19,

¹ asist., dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² dipl. inž. agr., Zavodnje 24c, 3325 Šoštanj

³ univ. dipl. inž. agr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

⁴ izr. prof., dr., prav tam

September with 17 and October with 6 surveys. In a observation process 179.18 hectares of land was included from which 12 % was protected and 88 % was unprotected against big game. The biggest percentage of observed land presented permanent grassland (50 %) and maize fields (49 %). The rest was left to vegetables. Among them the highest percentage had bean (22 %) and potato (20 %). Succesive vegetables were beet (12 %), lettuce and carrot with 11 % each. The rest of the vegetables represented less than 10 % of observed land in vegetables. As protection measures physical barriers (mesh fence, wood fence, fence from plastic net and plastic tape), scarecrows (bag, clothes, glittering and coloured tape) and psychological barrier (electric fence) were used. Percentage of protected vegetables was relatively higher (59 %) than maize fields (23 %) and permanent grassland (0 %), but not absolutely. Percentage of maize fields damaged due to wild boar was 8 %. Observed land which was protected with electric fence was very low (2.5 %). The most damaging big game species in the area of Šoštanj and Velenje was wild boar (*Sus scrofa* L.), meanwhile roe deer (*Capreolus capreolus* L.) and fallow deer (*Dama dama* L.) caused less damage.

Key words: big game, inventory, protection of agricultural land, Šaleška valley, wild boar

1 UVOD

Človek se kot kmetovalec skozi svojo zgodovino srečuje z različnimi načini varovanja kmetijskih zemljišč pred prostoživečimi živalmi od tistega obdobja, ko je iz lovsko nabiralnega načina preživljanja prešel v poljedelsko živinorejski način pridelovanja in zagotavljanja hrane za obstoj in razmnoževanje svoje vrste. Na eni strani je začel varovati kmetijske gojene rastline pred rastlinojedo divjadjo in na drugi strani je začel varovati udomačene rejne živali pred napadi velikih zveri (Conover, 2002). Seveda v vseh teh preteklih obdobjih ni imel na voljo toliko različnih načinov varovanja kmetijskih zemljišč in odganjanja divjadi kot jih poznamo danes in tudi če je hotel, mu vedno ni bilo dovoljeno to izvajati. Tako je obdobje srednjega veka bilo za kmeta iz tega vidika težko, saj je plemstvo zaradi zabave pri lovu na prostoživeče živali kmetu prepovedalo odganjati divjad ali celo ograjevati njive.

V obdobju vladanja Marije Terezije so bile razmere z vidika varovanja zemljišč bolj v prid kmetom, številčnost divjadi se je izredno zmanjšala in zgodilo se je celo, da je bil divji prašič zato v naravi iztrebljen (Širnik, 2005). Življenjski prostor divjadi je gozd, zato je potrebno divjadi tam tudi zagotoviti ustrezne razmere za prehrano. Škoda po divjadi nastaja tako v gozdovih kot tudi na kmetijskih zemljiščih in da so škode na slednjih zemljiščih po divjadi čim manjše, morajo v gozdovih biti izpolnjeni določeni pogoji. To sta med drugimi tudi grmovna in zelena hrana, ki nudita divjadi obilo hrane kot tudi kritje in miren prostor (Černe, 2004). Do takih razmer lahko pride, kadar so gozdovi zelo razredčeni in izsekani, saj se tam razvijeta zelnata in grmovna vegetacija. Tako ugodne razmere so bile značilne v obdobju po 2. svetovni vojni po Evropi in v tem obdobju se je dvignila tudi številčnost divjadi. Drugo tako ugodno obdobje za bivanje divjadi, ko je bila hkrati tudi škoda še znosna je v Sloveniji nastopilo z opuščanjem rabe in zaraščanjem kmetijskih zemljišč (Cunder, 1998). Najprej se je to dogajalo predvsem v visokogorskem in hribovitem svetu, kasneje pa tudi na krasu in tudi tam, kjer je delež gozda v Sloveniji sploh največji. Opuščena in hitro ali počasi zaraščajoča se zemljišča so v zadnjih 50 letih nudile divjadi ugoden habitat za bivanje, saj se je tam ponovno začela razvijati z visokimi steblikami zelnata in grmovna vegetacija.

Do današnjega dne divjad ni nikoli dobila predznak škodljivca, kot ga imajo nekatere vrste žuželk (Černe, 2004; Krže, 1997), ki lahko drastično znižajo pridelavo kmetijskih rastlin in jih je zato potrebno nadzorovano uničevati, s čimer se ukvarja del znanstvenega področja varstva rastlin. In prav je, da se kmetijci zavedajo pozitivne vloge, ki jo imajo drugače

veliki rastlinojedi v gozdu in kulturni krajini s tem ko se tudi pasejo (Hester *et al.*, 2006). Divjad so tiste prostoživeče živalske vrste, ki jih tako določa Zakon o divjadi in lovstvu ter se jih lahko lovi (ZDLov-1, 2004). Zadnji sprejeti zakon o divjadi in lovstvu ureja upravljanje z divjadjo, ki obsega načrtovanje, ohranjanje, trajnostno gospodarjenje in spremljanje stanja divjadi ter načine njihovega izvajanja.

V 54. členu tega zakona se odgovornost za škodo od divjadi na lovnih površinah, kar kmetijska zemljišča so, pripiše upravljalcu lovišča, to je lovski družini ali lovišču s posebnin namenom ne glede na krivdo. Za preprečevanje škode sta odgovorna lastnik kmetijskih in gozdnih zemljišč na katerih lahko škoda nastane in upravljalec lovišča. Lastnik kmetijskih in gozdnih zemljišč mora kot dober gospodar narediti vse potrebno, da zavaruje svoje premoženje pred nastankom škode. Upravljalec lovišča pa je na zahtevo lastnika dolžan preskrbeti ustrezna varovalna sredstva za varstvo premoženja pred divjadjo, lastnik pa jih je dolžan uporabljati (Divjad in kmetijstvo, 2007). Da bi bilo potrebno pogosteje uporabljati varovalna sredstva pred nastankom škode po parkljasti divjadi (divji prašič, jelenjad, srnjad, damjak), v nadaljevanju divjad, na kmetijskih zemljiščih ugotavljajo tudi Gönter *et al.* (2007), ko navajajo da je bilo na območju gojitvenega lovišča Kompas med letoma 2001 in 2004 zavarovanih pred divjadjo le 6,2 % parcel na katerih so lastniki uveljavljali odškodnino.

Škoda po divjadi na kmetijskih zemljiščih, običajno njivah, je lahko danes večja tudi zaradi tega, ker je bilo v pripravo zemljišča za setev in kasnejše gojenje kulturne rastline vloženi več sredstev (novejši kmetijski stroji, dražja fitofarmaceutvska sredstva, boljši semenski material in večja količina mineralnih gnojil) kot še pred 10 ali 20 leti. Svoj davek je zahtevala tudi urbanizacija ravninskih predelov v obliki zmanjšanja kakovostnih kmetijskih zemljišč, ki jih je bilo potrebno nadomestiti in jih poiskati v bližini bivališč divjadi (Laznik, 2008). Prav tako je dražja pridelava, kadar je to vse to opravljeno na nagnjenih terenih in na več manjših zemljiščih. Skupni znesek škod, ki so ga upravljanci izplačali oškodovancem se vsako leto, od leta 2005 zmanjšuje. Najvišji je bil v letu 2004, ko je znašal 562.041 EUR, kasneje pa je bil vsako leto manjši. Največji delež v strukturi povračil zaradi škode predstavlja škoda po divjem prašiču (MKGP, 2009). Jerina (2006) poroča, da divji prašič poseljuje kar 55 % Slovenije ter da njegov potencialni habitat obsega kar 67 %. Pri tem obstaja nevarnost, da se bosta njegova razširjenost in številčnost še povečala zaradi spremenjenih okoljskih razmer kot so višja temperatura zraka, povečevanje gozdnatosti ter zamenjava iglavcev z listavci.

Znana sta dva pristopa preprečevanja škod zaradi divjadi na kmetijskih zemljiščih. To sta uporaba biotičnih metod in tehnično varstvo kmetijskih rastlin (Černe, 2004). Za izvajanje prvega pristopa skrbijo lovci in gozdarji in vključuje praktično vse ukrepe, ki jih izvajajo zato, da bi izboljšali življenjske razmere za divjad, seveda v gozdu. Medtem, ko je po zakonu kmet dolžan uporabljati načine varovanja kmetijskih rastlin iz skupine tehničnih sredstev. V tej skupini so: mehanična, vizuelna, svetlobna, zvočna in kemična sredstva ter elektroograje. V zadnjem obdobju se je razširila predvsem uporaba elektroograj, ki se jih uporablja predvsem za ograjevanje njiv s koruzo. Kmetje jih lahko dobijo od lovcev oziroma lovskih družin takrat in tam, kjer nastaja škoda od divjadi. Da elektroograje predstavljajo najbolj učinkovit način zadrževanja domačih živali na pašnih površinah je že dolgo znano (Vidrih T. in Vidrih M., 1999) in to kmetovalci, ki pasejo dobro vedo. Pridobivamo pa v zadnjem obdobju dobre izkušnje z elektroograjami tudi pri ograjevanju njiv s koruzo in posledično s tem tudi uspešno odvrčamo divjega prašiča (Vidrih *et al.*, 2007). Vendar pa obstajajo posebnosti v postavitvi in vzdrževanju elektroograj kadar jih uporabljamo za namene odvrčanja divjadi od posevkov gojenih rastlin (Vidrih *et al.*, 2008) in če bomo želeli boljši uspeh varovanja z elektroograjami, se bodo morali kmetovalci z njimi tudi navaditi ravnati pravilno oziroma jim bodo morali pri tem

pomagati tudi lovci (Fortuna, 2008). Namen raziskave je bil dobiti oceno o vrstah varovalnih sredstev in njihovi pogostnosti uporabe pri odvrčanju divjadi s kmetijskih zemljišč na območju Šaleške doline. Prav tako nas je zanimalo tudi, katera vrsta kmetijskega zemljišča (travinje, njiva, vrt) je največkrat varovana pred divjadjo in kakšno je razmerje med varovanimi in nevarovanimi kmetijskimi zemljišči.

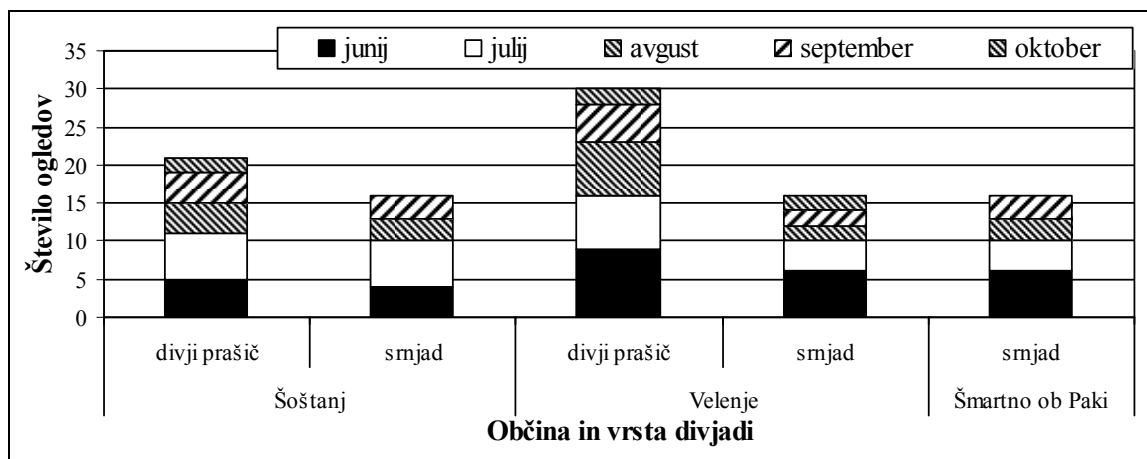
2 MATERIAL IN METODE

Raziskavo, ki je vključevala število in vrsto poškodb ter načine varovanja zemljišč, smo izvajali od sredine junija do konca oktobra 2006 na območju Šaleške doline, ki pokriva občine Šoštanj, Velenje in Šmartno ob Paki (Slivnik, 2008). Skupna površina območja je 196,92 km² (Statistični urad, 2008) in v celoti sodi v območje z omejenimi možnostmi gospodarjenja oziroma v kategorijo kmetij s težjimi pridelovalnimi razmerami. Naravne danosti omogočajo predvsem usmeritev v živinorejo (govedoreja, reja drobnice), ki se dopolnjuje z gozdarstvom. V zadnjih letih se povečuje zanimanje za tržno pridelavo zelenjave, nekaj je ekološkega kmetovanja, z intenzivnim sadjarstvom se kmetje ukvarjajo v manjši meri. Območje Šaleške doline pokrivata dve lovski upravljalski območji, in sicer: Kamniško Savinjsko lovsko upravljalno območje (KS LUO) in Savinjsko Kozjansko lovsko upravljalno območje (SK LUO). Prvo LUO pokriva območje občine Velenje in Šmartno ob Paki, drugo LUO pa območje občine Šoštanj (Letni lovsko upravljalski ..., 2007). V občini Šoštanj smo v raziskavo vključili kraje Zavodnje, Bele vode, Šentvid, Florjan, Topolšica, Ravne, Lajše, v občini Velenje kraje Gaberke, Graška gora, Cirkovce, Plešivec, Škale, Vinska gora, v občini Šmartno ob Paki pa kraje Veliki vrh, Mali vrh, Gorenje in Paška vas. Pri popisu smo uporabljali metodo ocenjevanja na oko. Najprej smo ocenili velikost zemljišča oziroma parcele, si zabeležili ime lastnika ter tip poškodb na zemljišču. Pri pregledu smo si zapisali tudi ali je bilo zemljišče (travinje, njiva, vrt) varovano ali ne, in če je bilo, kakšen način varovanja zemljišča so kmetje uporabili. Ogled nekaterih zemljišč smo opravili večkrat skozi obdobje opazovanja. Da je šlo res za poškodbe od divjadi, smo se prepričali s preučitvijo tipa poškodb in odtisov stopal, s katerimi je mogoče dokaj enostavno ugotoviti vrsto divjadi.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Od sredine junija do konca oktobra 2006 smo na obravnavanem območju napravili skupaj 99 ogledov izbranih kmetijskih zemljišč. Največ ogledov smo naredili v juniju (30), sledil mu je julij z 27 ogledi. V naslednjih treh mesecih smo opravili še 19, 17 in 6 ogledov na mesec. Na območju občine Šoštanj se je nahajalo 37, na območju občine Velenje 46 in na območju občine Šmartno ob Paki 16 opazovanih zemljišč. Na 51 krajih opazovanj je bilo zemljišče varovano pred divjim prašičem in na 48 krajih raziskav so bila zemljišča varovana pred srnjadjo (slika 1).

V občini Šoštanj je bilo od skupnih opazovanih zemljišč največ travinja (46,1 ha oz. 58,1 %), sledile so njive s koruzo (33,1 ha oz. 41,7 %). Skupni delež vrtnin je znašal manj kot 1 %, med vrtninami je največ zemljišč zasedal krompir. V občini Velenje je večji delež opazovanih zemljišč odpadel na njive s koruzo (55,3 %) kot na travinje (44,5 %). Delež opazovanih vrtnin je bil zanemarljivo majhen. Na območju občine Šmartno ob Paki so bili v opazovanje vključeni samo vrtovi. Največji delež (21,2 %) teh zemljišč je bil zasajen s fižolom. Skupna površina kmetijskih zemljišč, vključenih v naše opazovanje, je bila 179,81 ha (preglednica 1).



Slika 1: Število ogledov zemljišč v občinah Šoštanj, Velenje in Šmartno ob Paki glede na divjad in po mesecih v letu 2006

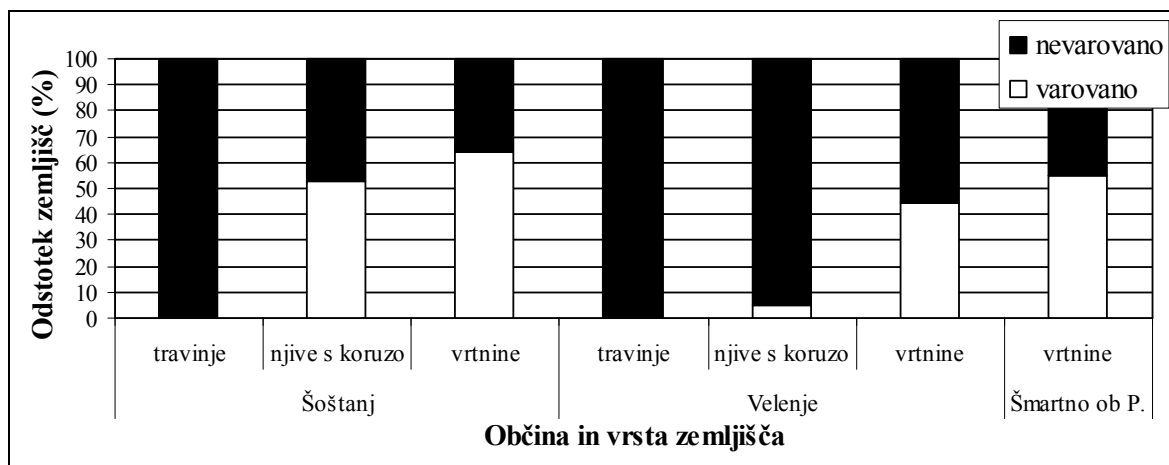
Figure 1: Number of parcel observations in municipalities Šoštanj, Velenje and Šmartno ob Paki according to big game and months in 2006

Preglednica 1: Velikost opazovanih zemljišč vključenih v raziskavo pod travinjem, njivami z koruzo ter vrtinami ter njihov odstotek v občinah Šoštanj, Velenje in Šmartno ob Paki v letu 2006

Table 1: Size of observed parcels included in the research under grassland, arable maize fields and vegetables and their percentage in municipalities Šoštanj, Velenje and Šmartno ob Paki in 2006

Kulturna rastlina	Šoštanj		Velenje		Šmartno ob Paki	
	(m ²)	%	(m ²)	%	(m ²)	%
Travinje	461.000,00	58,1	445.000,00	44,5	0,00	0,0
Koruzna	331.000,00	41,7	553.000,00	55,3	0,00	0,0
Fižol	293,85	<0,1	77,97	<0,1	37,87	21,2
Pesa	200,97	<0,1	16,34	<0,1	5,34	3,0
Krompir	328,43	<0,1	20,93	<0,1	30,27	16,9
Zelje	53,40	<0,1	20,77	<0,1	35,44	19,8
Korenje	129,82	<0,1	47,64	<0,1	21,94	12,3
Solata	128,05	<0,1	52,64	<0,1	32,94	18,4
Čebula, česen	3,92	<0,1	21,8	<0,1	4,00	2,2
Buče	93,50	0,01	33,26	<0,1	11,10	6,2
Rože	2,50	<0,1	130	<0,1	0,00	0,0
Peteršilj	3,25	<0,1	0,00	0,0	0,00	0,0
Jagode	0,00	0,0	3,00	<0,1	0,00	0,0
Ohrovt	0,00	0,0	6,93	<0,1	0,00	0,0
Kumare	0,00	0,0	3,00	<0,1	0,00	0,0
Skupaj	793.279,69	100,0	998.434,28	100,0	178,90	100,0

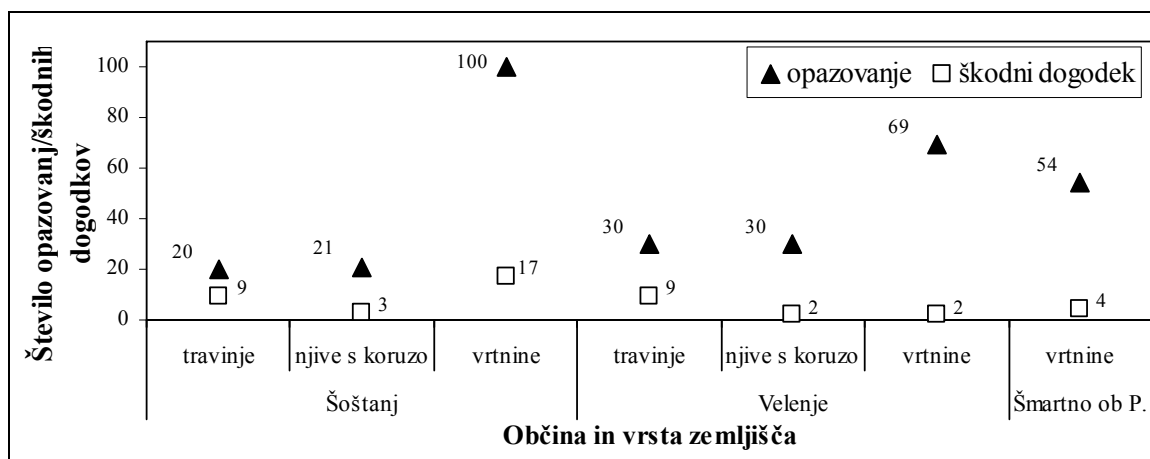
Razmerje med varovanimi in nevarovanimi zemljišči je bilo med kmetijskimi rastlinami različno. Tako travinje ni bilo varovano pred divjim prašičem ne v občini Šoštanj, ne v občini Velenje. Varovanih njiv s koruzo je bilo v občini Šoštanj 52,6 % od opazovanih njiv s koruzo. V občini Velenje je bilo varovanih veliko manj zemljišč, kjer je bila zasejana koruzo. Takih njiv je bilo v našem opazovanju le 5,1 %. Vrtovi so bili boljše varovani, saj so bili v povprečju zavarovani pred divjadjo vsaj 40 %. Tako je delež varovanih vrtov v občini Šoštanj znašal 63 %, v občini Velenje je bil 44 % in v občini Šmartno ob Paki 55 % opazovanih vrtov (slika 2).



Slika 2: Odstotek varovanih in nevarovanih zemljišč pod travinjem, njivami s koruzo in vrtninami v občinah Šoštanj, Velenje in Šmartno ob Paki v letu 2006

Figure 2: Percentage of protected and unprotected parcels under grassland, maize fields and vegetables in municipalities Šoštanj, Velenje and Šmartno ob Paki in 2006

Na krajih opazovanj je bilo od 2 do 17 škodnih dogodkov na kmetijskih zemljiščih (slika 3). Največ škodnih dogodkov (9) glede na število opazovanj (20) je bilo na travinju v občini Šoštanj, ki so nastali zaradi ritja divjega prašiča. Najmanj škodnih dogodkov (2) je bilo v občini Velenje in sicer na vrtninah, ki jih je povzročila srnjad.



Slika 3: Število opazovanj in škodnih dogodkov na gojenih rastlinah zaradi divjadi v občinah Šoštanj, Velenje in Šmartno ob Paki v letu 2006

Figure 3: Number of observations and damage events on cultivated plants due to big game municipalities Šoštanj, Velenje and Šmartno ob Paki in 2006

Največje razmerje med številom opazovanj in škodnih dogodkov je bilo na zemljiščih, kjer so kmetje gojili vrtnine. Tako se je to razmerje gibalo med 5:1 in 35:1. Po podatkih iz letni lovske upravljalnih načrtov za KS LUO in SK LUO (Letni lovske upravljalni ..., 2007) je škoda v letu 2006 po divjih prašičih v KS LUO znašala 51 % in v SK LUO kar 80 % vse izplačane škode, kar pa v naših opazovanjih nismo zasledili.

Na opazovanih zemljiščih smo zabeležili 9 različnih vrst varovalnih sredstev (preglednica 2). Uporabljeno je bilo pet vrst masivnih ograj in sicer: ograja iz žičnega pletiva, ograja iz plastične mreže, lesena ograja, ograja iz plastičnih trakov in ograja iz barvnih trakov. Tri vrste varovalnih sredstev so imele vizualni učinek. To so bila strašila iz PVC vreč, strašilo iz obleke ter ograja iz svetlečih trakov. Zadnja vrsta varovalnega sredstva je imela učinek

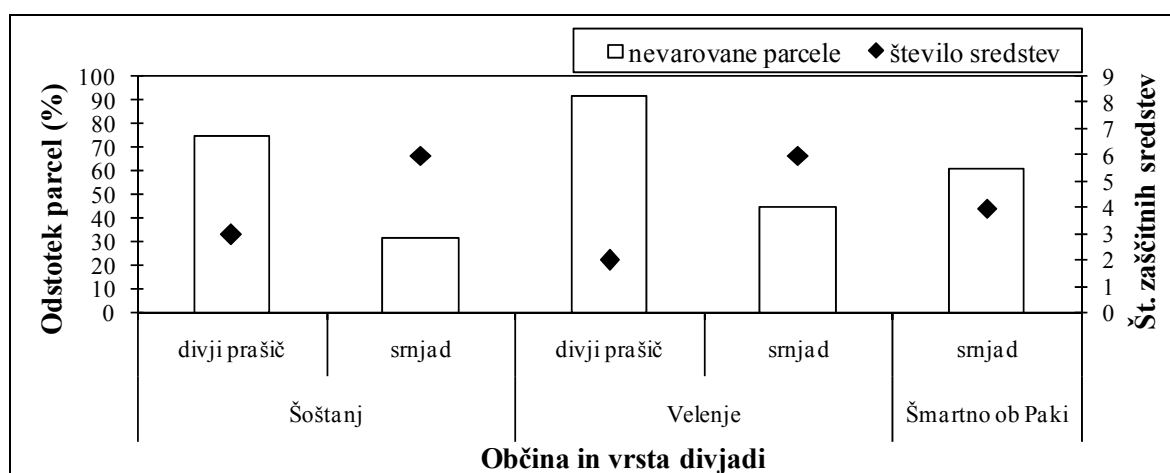
psihološke ovire (elektroograja). Njive s koruzo so bile najpogosteje varovane pred divjim prašičem z začasno elektroograjo. Vendar postavljene elektroograje niso izpolnjevale zahtev po odvrčanju divjega prašiča, saj so bili razmiki med elektrotrakovi in elektrovrvicami preveliki, prav tako pa tudi višina ni bila ustrezna. V občini Šoštanj je bilo z začasnimi elektroograjami varovanih 8 parcel in v občini Velenje 4 parcele. Vrtovi so bili varovani pred srnjadjo najpogosteje z eno od masivnih ograj ali s strašilom. Največkrat varovani vrtovi (19) so bili v krajih, ki ležijo na območju občine Šoštanj. Kot masivna ograja je bila uporabljena ograja iz žičnatega pletiva (5-krat), lesena ograja (5-krat) ali ograja iz plastičnih trakov (5-krat).

Preglednica 2: Način varovanja opazovanih kmetijskih zemljišč in število primerov uporabe le teh proti divjadi v občinah Šoštanj, Velenje in Šmartno ob Paki v letu 2006

Table 2: Protection measures of observed parcels and number of their usage against big game in municipalities Šoštanj, Velenje and Šmartno ob Paki in 2006

Način varovanja	Šoštanj		Velenje		Šmartno ob Paki
	divji prašič	srnjad	divji prašič	srnjad	srnjad
Ograja iz žičnatega pletiva	0	0	1	5	0
Ograja iz plastične mreže	0	2	0	0	0
Lesena ograja	1	1	0	1	5
Ograja iz plastičnih trakov	1	5	0	1	0
Ograja iz svetlečih trakov	0	0	0	3	1
Ograja iz barvnih trakov	0	0	0	1	0
Strašilo iz vreč	0	4	0	2	0
Strašilo iz oblek	0	2	0	0	1
Elektroograja	8	5	4	0	1

Glede na vrsto divjadi, kateri se želi preprečiti dostop na kmetijska zemljišča oziroma preprečiti škodo na posevkih poljščin, so bila najmanj zavarovana zemljišča pred škodo po divjem prašiču. Takih parcel je bil v občini Šoštanj 75 % in v občini Velenje kar 92 % vseh opazovanih parcel. Kmetje so za varovanje parcel pred vdorom divjega prašiča uporabili tri (Šoštanj) oziroma dve (občina Velenje) vrsti varovalnih sredstev. Bolj raznovrstni v varstvu svojih pridelkov so bili pred vdorom srnjadi. Tako so pred srnjadjo varovali s štirimi ali šestimi različnimi varovalnimi sredstvi (slika 4).



Slika 4: Odstotek nevarovanih parcel in število uporabljenih varovalnih sredstev proti divjadi v občinah Šoštanj, Velenje in Šmartno ob Paki v letu 2006

Figure 4: Percentage of unprotected parcels and number of used protection measures against big game in municipalities Šoštanj, Velenje and Šmartno ob Paki in 2006

V povprečju je bil delež pred srnjadjo nevarovanih parcel (46 %) manjši kot pred divjim prašičem (84 %). Najnižji delež je bil v občini Šoštanj (32 %), sledita pa ji občina Velenje (45 %) in občina Šmartno ob Paki (61 %).

4 SKLEPI

Na podlagi rezultatov enosezonskega opazovanja uporabe varovalnih sredstev na kmetijskih zemljiščih z namenom preprečiti škodo po parkljasti divjadi na območju Šaleške doline ugotavljamo:

- da je delež varovanih kmetijskih zemljišč bil zelo majhen (12 %). Če hočemo preprečiti škodo po parkljasti divjadi na travnikih, njivah in vrtovih bo potrebno ob naraščajoči populaciji divjadi, potrebno več zemljišč tudi varovati;
- da sta največji delež opazovanih zemljišč v naši raziskavi zasedala trajno travinje (50 %) in njive s koruzo (49 %), preostanek je odpadel na vrtnine;
- da sta med zasejanimi vrtninami največji delež predstavljala fižol (22 %) ter krompir (20 %). Sledili so pesa (12 %), ter solata in korenje, vsak z 11 %;
- da so kot varovalna sredstva bile uporabljene masivne ograje, strašila in začasna elektroograja;
- da so vrtnine bile bolj pogosto varovane kot njive s koruzo;
- da bi pri varovanju vrtov lastniki lahko bolj pogosto namesto masivne ograje ali strašila uporabljali začasno elektroograjo. Za ta namen je zelo uporabna elektromreža, višine od 90 do 120 cm, ki s svojo dolžino 50 metrov in vstavljenimi količki omogoča dobro, hitro in enostavno ograditev manjših parcel za krajši čas;
- da so bile elektroograje premalokrat uporabljene kot varovalno sredstvo. Poleg tega mora biti taka elektroograja ustrezna za premeščanje in hitro postavitvev na območju, kjer se bo pokazala potreba po varovanju poljščin in njena postavitvev naj bi bila čim manj moteča za druge uporabnike prostora;
- zaradi velikega deleža travinja na obravnavanem območju, je zelo smiselna tudi postavitvev stalnih elektroograj, ker bi lahko tam izvajali nadzorovano pašo.

5 LITERATURA

- Conover, M. 2002. Resolving human-wildlife conflicts: the science of wildlife damage management. Boca Raton, CRC Press: 407 str.
- Cunder, T. 1998. Razširjenost travinja v Sloveniji. *Sodobno kmetijstvo*, 31, 4: 173-175
- Černe, L. 2004. Preprečevanje in ocenjevanje škod od divjadi na kmetijskih rastlinah. Ljubljana, Lovska zveza Slovenije: 174 str.
- Divjad in kmetijstvo. 2007. Ljubljana, Zavod za gozdove Slovenije: 6 str.
- Fortuna, F. 2008. Je pričakovati še večje škode v kmetijstvu. *Kmečki glas*, 65,49: 6.
- Gönter, P., Kotar, M., Adamič, M. 2007. Škoda od parkljaste divjadi v kmetijskem prostoru na območju Gojitvenega lovišča Kompas – Peskovci na Goričkem. *Gozdarski vestnik*, 65, 4: 187-202.
- Hester, A.J., Bergman, M., Iason, G.R., Moen, J. 2006. Impacts of large herbivore on plant community structure and dynamics. V: Danell, K., Duncan, P., Bergstrom, R., Pastor, J. (ur.) *Large Herbivore Ecology, Ecosystems, Dynamics and Conservation*. Cambridge, Cambridge University Press: 97-141.
- Jerina, K. 2006. Vplivi okoljskih dejavnikov na prostorsko razporeditev divjega prašiča (*Sus scrofa* L.) v Sloveniji. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 81: 3-20.
- Krže, B. 1997. Lovec kot kmet in gozdar. Ljubljana, Lovska zveza Slovenije: 216 str.
- Laznik, Ž. 2008. Divji prašič je velik škodljivec. *Moj mali svet*, 40, 4: 38-39.
- Letni lovsko upravljalski načrt za IX. Savinjsko - Kozjansko lovsko upravljalsko območje za leto 2007. 2007. Nazarje, Zavod za gozdove Slovenije, območna enota Nazarje: 83 str.
- Letni lovsko upravljalski načrt za XIV. Kamniško - Savinjsko lovsko upravljalsko območje za leto 2007. 2007. Celje, Zavod za gozdove Slovenije, območna enota Celje: 54 str.

- Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano. Odškodnine za povzročeno škodo po divjadi na lovnih površinah. (januar 2009)
http://www.mkgp.gov.si/si/o_ministrstvu/direktorati/direktorat_za_gozdarstvo_lovstvo_in_ribistvo/sekktor_za_lovstvo_in_ribistvo/sekktor_za_lovstvo_in_ribistvo/lovstvo/lovstvo/navodila_za_postopek_povra_cila_skode_ki_je_na_nelovni_povrsini_povzroci_divjad_in_vodenje_teh_izplacil_iz_drzavnega_proracuna/odskodnine_za_povzroceno_skodo_po_divjadi_na_lovnih_povrsinah/
- Slivnik, U. 2008. Varovanje kmetijskih zemljišč pred divjadjo v Šaleški dolini. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 55 str.
- Širnik, E.R. 2005. Od plemenite do škodljive divjadi. Divji prašič v lovski zakonodaji. Lovec, 88, 10: 465-467.
- Vidrih, M., Benec, U., Trdan, S. 2007. Uporaba sistemov elektroograj za varovanje obdelovalnih zemljišč pred divjim prašičem (*Sus scrofa* L., Mammalia, Suidae). V: Maček, J. (ur.). Zbornik predavanj in referatov z 8. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 6.-7: marec 2007. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2007: 78-82.
- Vidrih, M., Benec, U., Trdan, S. 2008. Evaluation of different designs of temporary electric fence systems for the protection of maize against wild boar (*Sus scrofa* L., Mammalia, Suidae). Acta agriculturae Slovenica, 91, 2: 343-349.
- Vidrih, T., Vidrih M. 1999. Elektroograje. Postavitev in vzdrževanje. Kmetovalčev priročnik, Slovenj Gradec, Kmetijska založba: 62 str.
- Zakon o divjadi in lovstvu /ZDLov-1/ Ur. I. RS, št. 16/2004.

PREUČEVANJE NAČINOV DELOVANJA IZBRANIH RASTLINSKIH IZVLEČKOV NA KOLORADSKEGA HROŠČA (*Leptinotarsa decemlineata* [SAY]) NA JAJČEVCU

Helena ROJHT¹, Katarina KOS², Stanislav TRDAN³

^{1,2,3}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko
tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

Ugotavljali smo potencialne insekticidne oz. repelentne učinke rastlinskih izvlečkov (eterična olja: navadnega rožmarina [*Rosmarinus officinalis*], črnega popra [*Piper nigrum*], bergamota [*Citrus aurantium ssp. bergamia*], prave sivke [*Lavandula angustifolia*] in kafrovca [*Cinnamomum camphora*] ekstraktov: vinske rutice [*Ruta graveolens*], navadne breze [*Betula pendula*], vrtnega ognjiča [*Calendula officinalis*] in navadnega gabeza [*Symphytum officinale*], čistih snovi $\alpha+\beta$ -tujon in kafra) na več razvojnih stadijev koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata*) na jajčevcu. V laboratoriju smo uporabili no-choice test, kjer je bil škodljivcu na voljo list jajčevca pomočen v izbran izvleček. Listi tretirani s katerokoli preizkušano snovjo so bili signifikantno manj objedeni kot kontrolni listi. V poljskem poskusu smo rastline jajčevca škropili z dvema pripravkoma, ki sta v preliminarnem laboratorijskem poskusu pokazala zadovoljivo delovanje. Rezultati poljskega poskusa so pokazali signifikantno manj odraslih osebkov, mladih in starih ličink na rastlinah, ki so bile tretirane z eteričnim oljem rožmarina (1.8, 1.6, 0.24) kot v obravnavanju z bergamotko (3.0, 4.0, 0.88) in v kontrolnem obravnavanju (3.4, 3.5, 0.98). Prav tako so bile rastline signifikantno manj poškodovane v obravnavanju z rožmarinom, kot pri ostalih dveh. Signifikantno največ jajčnih legel na rastlino je bilo na kontrolnem obravnavanju.

Ključne besede: rastlinski izvlečki, koloradski hrošč, *Leptinotarsa decemlineata*, jajčevac, *Solanum melongena*, laboratorijski poskus, poljski poskus

ABSTRACT

RESEARCH ON THE MODES OF ACTION OF SOME PLANT EXTRACTS FOR CONTROLLING COLORADO POTATO BEETLE (*Leptinotarsa decemlineata* [SAY]) ON EGGPLANT

Potential insecticidal or repellent effects of several plants extract (essential oils of: rosemary [*Rosmarinus officinalis*], black pepper [*Piper nigrum*], bergamot [*Citrus aurantium ssp. bergamia*], lavender [*Lavandula angustifolia*], extracts: common rue [*Ruta graveolens*], European white birch [*Betula pendula*], garden marigold [*Calendula officinalis*] and blackwort [*Symphytum officinale*], camphor, $\alpha+\beta$ -thujone) on majority developmental stage of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) on eggplant were evaluated. In laboratory bioassay no-choice test was used, where one leaf of eggplant was placed in Petri dish and treated with chosen substance. In all cases, leafs treated with extracts were significant less nibbled compared with control treating. In field trail eggplants were treated with the two most promising extracts, which were chosen on the basis of preliminary tests. Results from field trail shows that there were significant less adults (1.8), young larvae (1.6) and old larvae

¹ mag., mlada raziskovalka, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., asist. za področje varstvo rastlin, prav tam

³ izr. prof., dr., prav tam

(0.24) of Colorado potato beetle on plants treated with essential oil of rosemary compared with eggplants treated with essential oil of bergamot (3.0, 4.0, 0.88) and in control trail (3.4, 3.5, 0.98). Moreover, the eggplants treated with essential oil of rosemary, were significant less defoliated than eggplants in other two treating. Significant more egg parcels on one eggplant were on control treating.

Key words: plant extracts, Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, eggplant, *Solanum melongena*, laboratory bioassay, field trail

1 UVOD

Koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata*) je eden od pomembnejših škodljivcev krompirja, zato zahteva vsakoletno zatiranje. Je oligofag, saj se hrani tudi na sorodnikih krompirja (Vrabl, 1992). Veliko škodo lahko povzroči na jajčevcu, manj mu ustreza paradižnik (Maceljki, 1999). Ker spada ta škodljivec med organizme, pri katerih je pogost pojav proti insekticidom odpornih ras, je potrebno pripravke za njegovo zatiranje pogosto menjati (Vrabl, 1992). Zaradi tega dejstva in dejstva, da se izbor insekticidov iz leta v leto zmanjšuje, je potrebno začeti z uvajanjem alternativnih metod zatiranja koloradskega hrošča.

Eterično olje rožmarina deluje na žuželke repelentno (Amer in sod., 2001; JiSen in ErrLieh, 2005), toksično oz. kontaktno insekticidno (Amer in sod., 2001; Papachristos in Stamopoulos, 2002; Isman, 2008), zmanjšuje ovipozicijo in hranjenje (Dover, 1985). Eterično olje sivke (*Lavandula angustifolia*) deluje na nekatere žuželke repelentno (Mauchline in sod., 2005), insekticidno (Regnault-Roger in Hamkraoui, 1993) vpliva na ovipozicijo (Koschier in Sedy, 2003) in ima tudi antibakterijske lastnosti (Fit in sod., 2007). Eterično olje kafre (*Cinnamomum camphora*) deluje insekticidno na zobatega žitnika (*Oryzaephilus surinamensis*) (Al-Jabr, 2006), repelentno na žitnega kutarja (*Rhyzopertha dominica*) (Al-Jabr, 2008).

Tujon najdemo v številnih rastlinskih vrstah, med drugim tudi v pravem pelinu (*Artemisia absinthium* L.), navadnem pelinu (*A. vulgaris* L.), žajblju (*Salvia officinalis* L.) in ameriškem kleku (*Thuja occidentalis* L.) (Albert-Puleo, 1978). Po slednjem je ta snov tudi dobila ime, saj so ga prav iz njega najprej ekstrahirali (Patočka in Plucarb, 2003). Na žuželke deluje repelentno (Alfaro in sod., 1981; Hwang in sod., 1985).

Vrtni ognjič (*Calendula officinalis*) deluje odvrčalno na ličinke riževega mokaarja (*Tribolium castaneum*) (Pascual-Villalobos, 1998) in deluje zaviralno na razvoj koloradskega hrošča (Wyrostkiewicz, 1992) in stenice *Oncopeltus fasciatus* (Alexenizer in Dorn, 2007).

Različne formulacije pripravkov iz semen črnega popra (*Piper nigrum*) so se izkazale kot dobra alternativa insekticidom za varstvo uskladiščenih pridelkov (Scott in sod., 2008). Ekstrakti črnega popra delujejo repelentno in imajo antifeeding učinek na žuželke (Scott in sod., 2004).

Vinska rutica (*Ruta graveolens*) deluje insekticidno (Benedicto in sod., 1998), odvrčalno za nekatere žuželke (Landolt in sod., 1999), antimikrobno (Saderi in sod., 2006), ima pa tudi nematicidne (Sasanelli in D'Addabbo, 1993) in fungicidne lastnosti (Oliva in sod., 2003).

Skorja navadne breze (*Betula pendula*) vsebuje betulinsko kislino, ki ima antifidantno delovanje (Singh in sod., 2002). Iz nje pridobivajo alobetulin in druge derivate, ki so izkazali antifidantno delovanje in insekticidne lastnosti (Medvedeva in sod., 2006).

Ekstrakti navadnega gabeza (*Symphytum officinale*) imajo antifidantno delovanje na gosenice kapusovega belina (*Pieris brassicae*) (Wawrzyniak, 1994) in odvrčajo samice kapusovega molja (*Plutella xylostella*) od odlaganja jajčec (Medeiros in sod., 2005).

Bergamotka (*Citrus aurantium* ssp. *bergamia*) vsebuje bergapten (Petauer, 1993), ki ima antifeeding učinek (Koul, 2005).

2 MATERIAL IN METODE DE LA

2.1 Laboratorijski poskus

Laboratorijski poskus smo opravili v entomološkem laboratoriju na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo. V petrijevke premera 15 cm smo dali v posamezen pripravek namočen list jajčevca, ki smo ga dali v eppendorfovo epruveto z vodo in eno ličinko ali odrasli osebek koloradskega hrošča. Uporabili smo naslednje koncentracije pripravkov: eterična olja rožmarina, kafe, bergamotke, črnega popra in sivke (0,1 %, 0,5 %, 1 %, 3 %), glikolni ekstrakt navadnega gabeza in tekoči ekstrakt vrtnega ognjiča (0,1 %, 0,5 %, 1 %, 3 %, 5%), etanolni ekstrakt vinske rutice in etanolni ekstrakt breze (0,1 %, 0,5 %, 1 %, 5 %, 10 %), tujon (0,01 %, 0,1 %, 1 %), kafa (0,001, 0,002, 0,004 in 0,008 %). Poskus je potekal v sobnih razmerah. Objedenost listov (Cutler in sod., 2007) in fitotoksičnost pripravkov smo ocenjevali prvi, drugi in tretji dan po tretiranju.

2.2 Poljski poskus

Poljski poskus smo izvajali na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete. Jeseni smo tla globoko preorali, še prej smo jih pognojili s preperelim hlevskim gnojem (20 t/ha), dodali smo še 80 kg N/ha, 150 kg P₂O₅/ha in 100 kg K₂O/ha. Seme smo ročno posejali v stiroporne gojitvene plošče (50 x 30 cm) z 82 setvenimi mesti (volumen posamezne celice 16,5 cm³) v substrat Potgrond H (Klasman; pH 6-6.5; N 180 mg L⁻¹; P₂O₅ 210 mg L⁻¹; K₂O 250 mg L⁻¹; MgO 85 mg L⁻¹ + mikroelementi). Gojenje sadik je potekalo v raziskovalnem steklenjaku BF, temperatura se je gibala med 18 in 26 °C. Sadike z razvitimi štirimi pravimi listi smo ročno presadili na črno folijo na razdaljo 50 x 50 cm. Takoj po sajenju smo poskrbeli za redno namakanje sadik, kar omogoča rastlinam dobro začetno rast in razvoj ter manjši šok ob presajanju. V rastni dobi so bile vse rastline namakane s »T-tape« sistemom dvakrat na teden. Prek namakalnega sistema smo enkrat tedensko dodali vodotopno hranilo (6.5 kg ha⁻¹ KNO₃ in 15.2 kg ha⁻¹ NPK 20-20-20). Uporabili smo pet sort: Black bell, Madonna, Epic, Okrogli in Srednje dolgi. Poskus smo izvedli v treh blokkih. Blok je bil razdeljen na 15 parcel, na vsako smo posadili 10 rastlin ene sorte v dveh vrstah. Za škropljenje z eteričnim oljem bergamotke in rožmarina smo se odločili zato, ker sta od vseh eteričnih olj v preliminarnem poskusu pokazala najboljše delovanje na odrasle osebe koloradskega hrošča, hkrati pa najnižjo fitotoksičnost. Eterično olje bergamotke smo pri tretjem in četrtem škropljenju nadomestili z eteričnim oljem kafe, ker je bila nabava bergamotke nemogoča. Opravili smo štiri škropljenja z 1 % koncentracijo eteričnih olj in šest ocenjevanj (število odraslih hroščev, število velikih (3L in 4L) in malih ličink (1L in 2L), število jajčnih legel in stopnjo poškodb (Cutler in sod., 2007)).

2.2 Statistične analize

Dobljene rezultate smo ovrednotili (analiza variance, Duncanov preizkus mnogoterih primerjav, $P \leq 0.05$) s programom Statgraphics Plus for Windows 4.0, za grafične prikaze smo uporabili program MS Office Excel 2003.

3 REZULTATI Z RAZPRAVO

3.1 Laboratorijski poskus

Generalna statistična analiza laboratorijskega poskusa je pokazala, da je deloval pripravek iz vinske rutice najbolj deterentno, saj so bili listi jajčevca najmanj poškodovani. Sledita navadni

gabez in tujon. Najslabše sta delovala vrtni ognjič in kafra, ki pa nista bila fitotoksična. Najbolj fitotoksično je bilo eterično olje sivke, sledijo eterično olje bergamotke, tujon, eterično olje kafe, eterično olje črnega popra. Fitotoksičnost se je pojavljala kot celoten ožig listne površine ali pa lokalno po listu, pri najvišjih koncentracijah. V preglednicah 1 in 2 so prikazane snovi glede na učinkovitost (ki smo jo izrazili kot stopnjo poškodb) in glede na fitotoksičnost. Rezultati nakazujejo, da sta bila pri kontaktnem nanosu učinkovita eterična olja kafe in bergamotke ter tujon, tako pri ličinkah kot pri odraslih hroščih. Hkrati pa so ti trije pripravki v skupini najbolj fitotoksičnih.

Preglednica 1: Prikaz pripravkov, v katere so bili pomočeni listi jajčevca, glede na poškodbe in fitotoksičnost.

	Poškodbe		Fitotoksičnost	
	Ličinke	Hrošči	Ličinke	Hrošči
Najmanj poškodb	Navadni gabez	Vinska rutica	Camphor	Vrtni ognjič
Najnižja stopnja fitotoksičnosti	Tujon	Bergamotka	Navadni gabez	Navadni gabez
	Bergamotka	Sivka	Vrtni ognjič	Camphor
	Vinska rutica	Črni poper	Vinska rutica	Tujon
	Kafra	Rožmarin	Kafra	Vinska rutica
Največ poškodb	Rožmarin	Tujon	Rožmarin	Kafra
	Vrtni ognjič	Kafra	Tujon	Rožmarin
Najvišja fitotoksičnost	Camphor	Navadni gabez	Bergamotka	Črni poper
		Camphor		Bergamotka
		Vrtni ognjič		Sivka

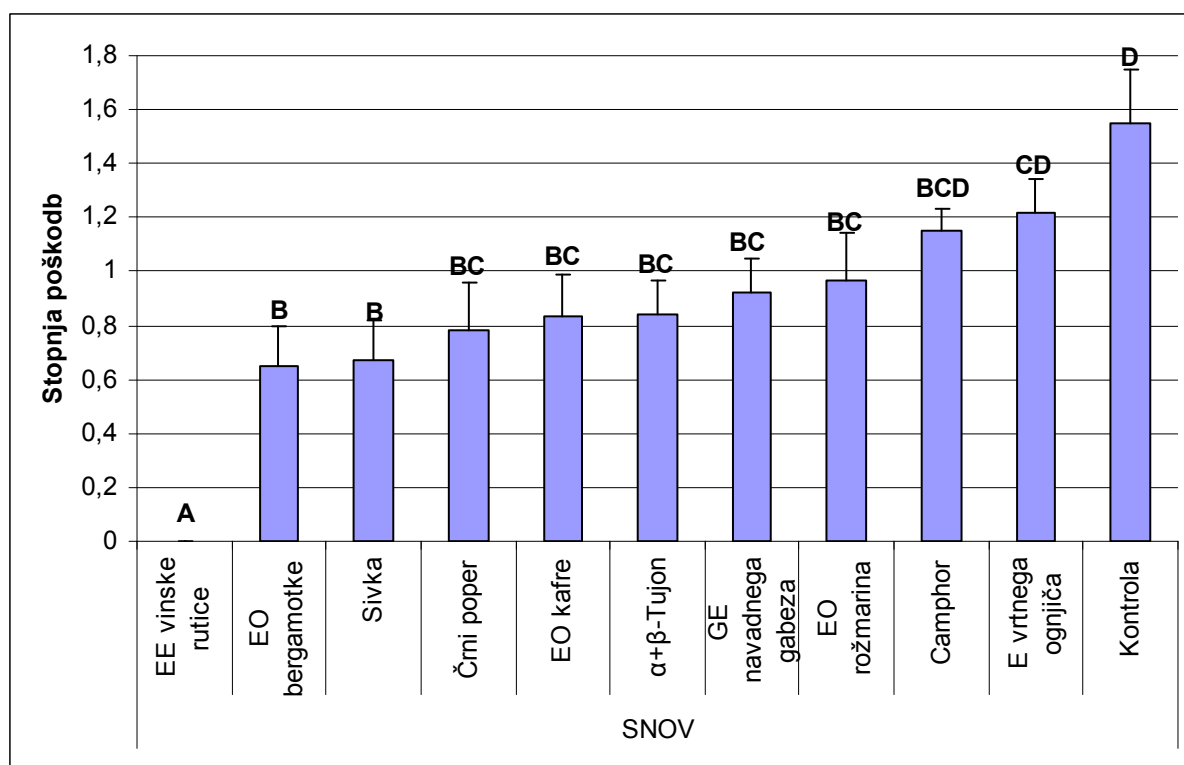
Preglednica 2: Kontaktno nanesene snovi na ličinke in odrasle osebkje koloradskega hrošča razporejene glede na poškodbe in fitotoksičnost.

	Poškodbe		Fitotoksičnost	
	Ličinke	Hrošči	Ličinke	Hrošči
Najmanj poškodb	Breza	Kafra	Camphor	Camphor
Najnižja stopnja fitotoksičnosti	Kafra	Tujon	Navadni gabez	Navadni gabez
	Bergamotka	Bergamotka	Vrtni ognjič	Vrtni ognjič
	Tujon	Vinska rutica	Breza	Vinska rutica
	Navadni gabez	Navadni gabez	Rožmarin	Breza
Največ poškodb	Rožmarin	Rožmarin	Kafra	Rožmarin
	Vinska rutica	Breza	Vinska rutica	Tujon
Najvišja fitotoksičnost	Camphor	Camphor	Bergamotka	Kafra
	Vrtni ognjič	Vrtni ognjič	Tujon	Bergamotka

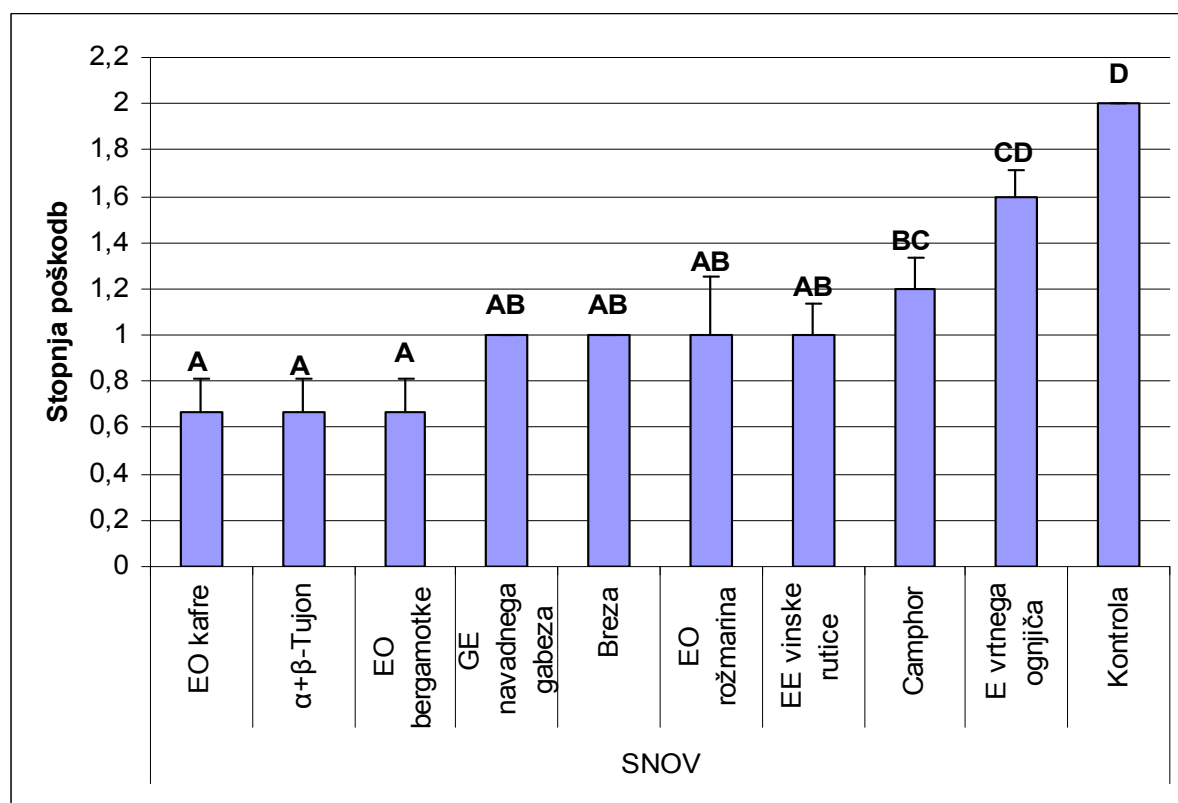
Odrasli osebki koloradskega hrošča niso obzrli le listov jajčevca, ki so bili namočeni v etanolni ekstrakt vinske rutice. Stopnja poškodb listov namočenih v kafro in ekstrakt vrtnega ognjiča je bila statistično neznačilna kot pri kontrolnem obravnavanju. Ostale snovi se med seboj niso signifikantno razlikovale (slika 1).

Ekstrakt vrtnega ognjiča znova ni izkazal odvrčalnih lastnosti, saj se stopnja poškodb ni statistično značilno razlikovala od kontrolnega obravnavanja. Vse ostale snovi so bile signifikantno boljše od kontrole, najmanj poškodovani so bili listi pomočeni v eterično olje kafe, eterično olje bergamotke in tujon, torej v snovi, ki so imele najmočnejši vonj (slika 2).

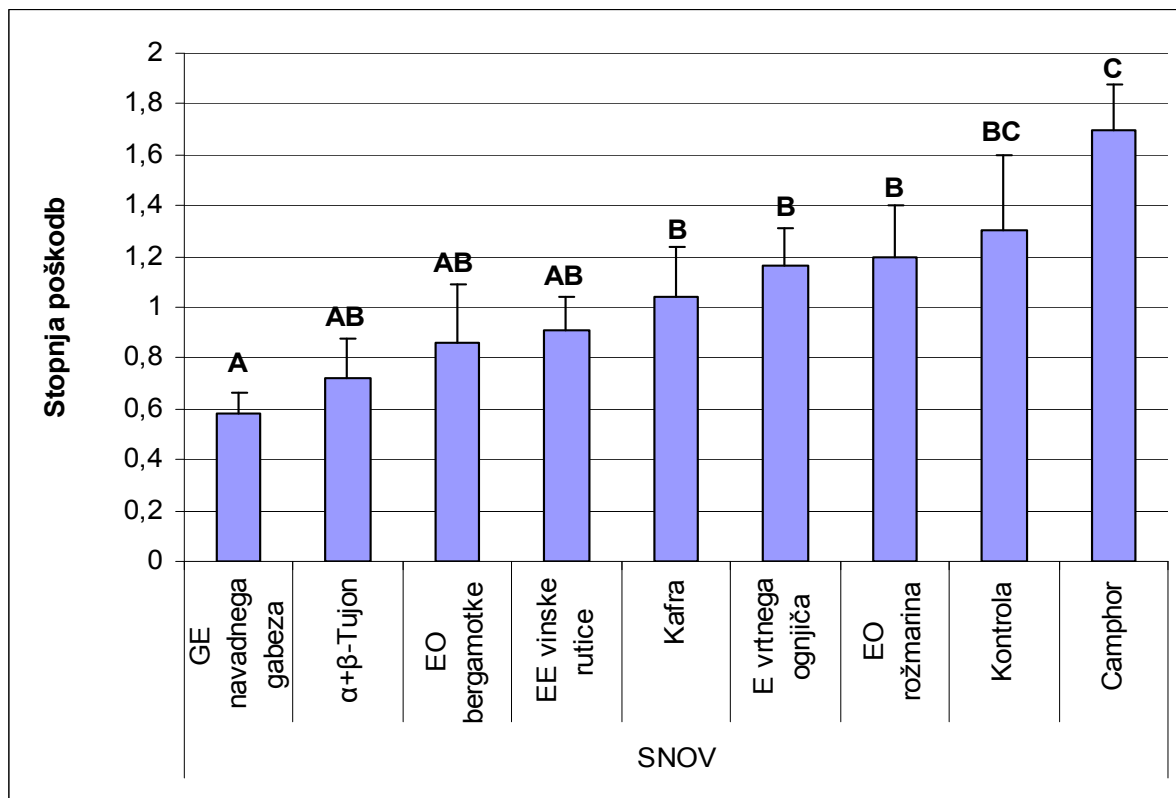
Najbolj odvrčalno je na ličinke koloradskega hrošča deloval glikolni ekstrakt navadnega gabeza, sledijo mu tujon, eterično olje bergamotke in ekstrakt vinske rutice. Najmanj odvrčalno je delovala kafra. Listi namočeni v kafro so bili namreč bolj objedeni kot listi jajčevca, ki so služili kot kontrola (slika 3).



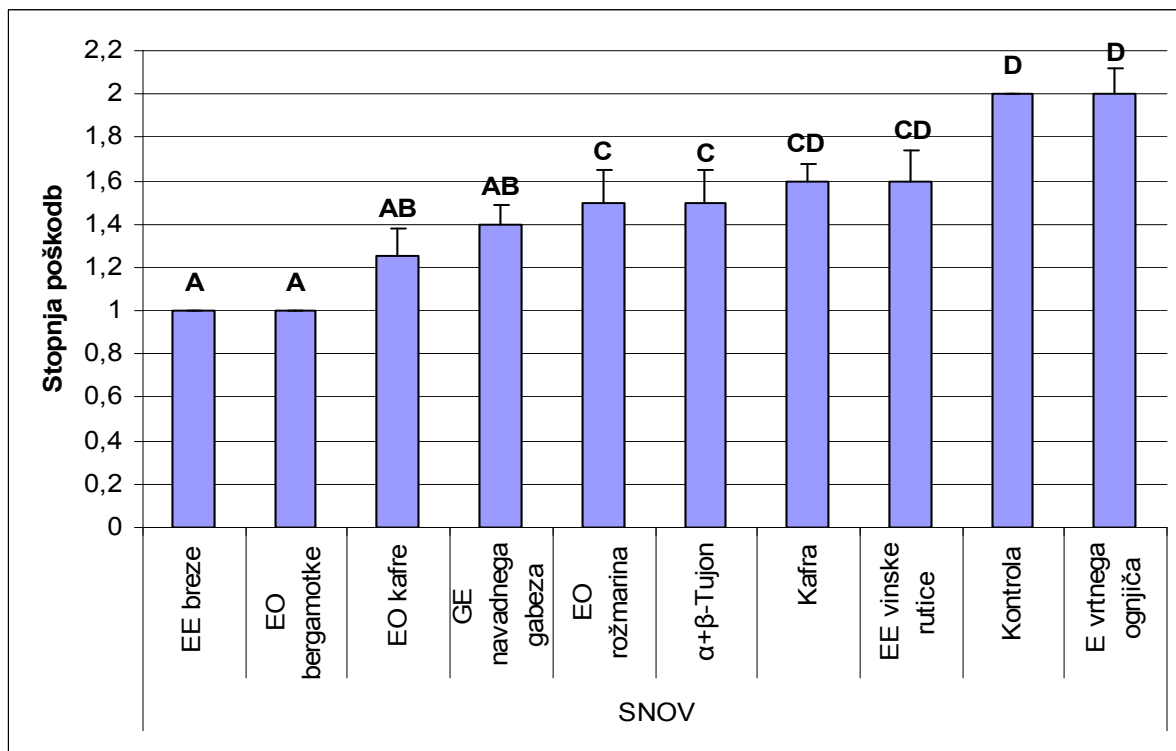
Slika 1: Povprečna stopnja poškodb odraslih osebkov koloradskega hrošča s standardnimi napakami glede na posamezna obravnavanja. Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike med snovmi. EO-eterično olje, GE-glikolni ekstrakt, EE-etanolni ekstrakt, E-ekstrakt



Slika 2: Povprečna stopnja poškodb odraslih osebkov koloradskega hrošča s standardnimi napakami glede na posamezna obravnavanja. Snovi so bile nanesene na hrošče kontaktno. Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike med snovmi. EO-eterično olje, GE-glikolni ekstrakt, EE-etanolni ekstrakt, E-ekstrakt



Slika 3: Povprečna stopnja poškodb ličink koloradskega hrošča s standardnimi napakami glede na posamezna obravnavanja. Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike med snovmi. EO-eterično olje, GE-glikolni ekstrakt, EE-etanolni ekstrakt, E-ekstrakt

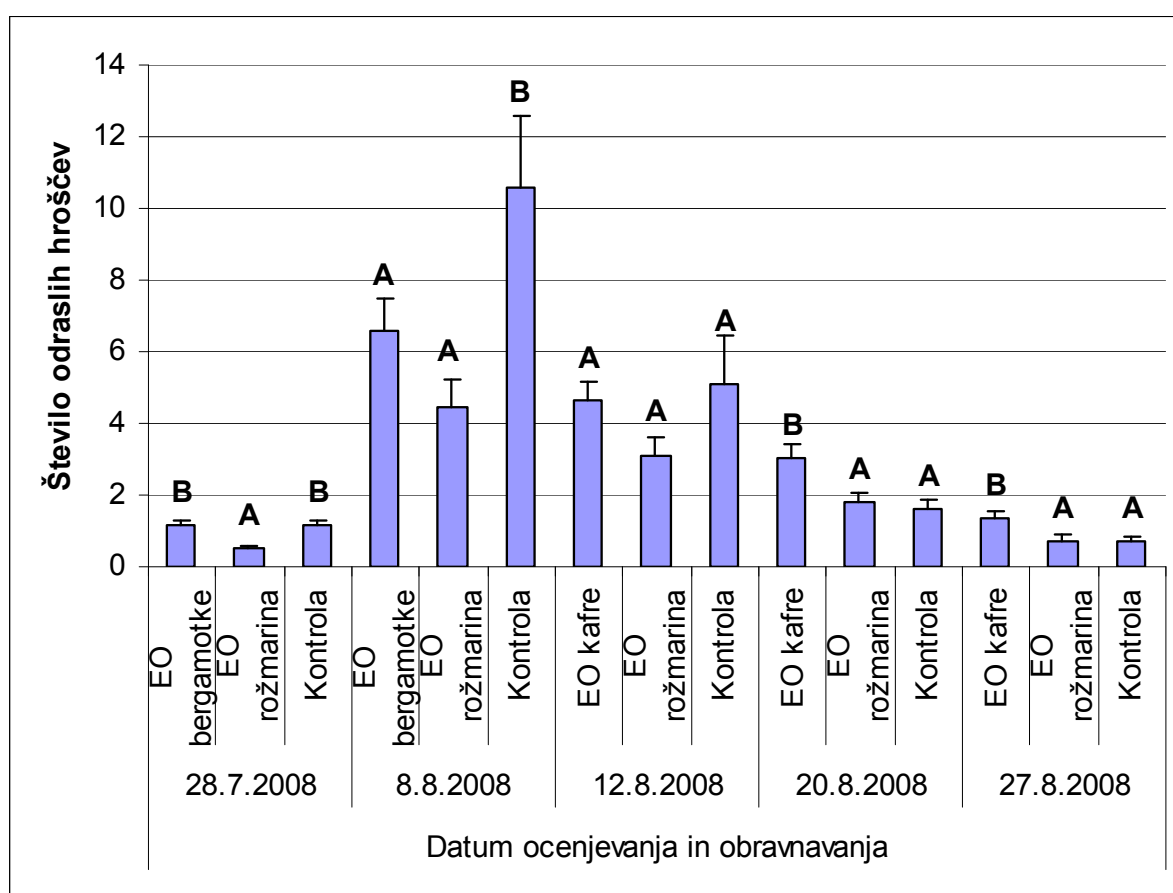


Slika 4: Povprečna stopnja poškodb ličink koloradskega hrošča s standardnimi napakami glede na posamezna obravnavanja. Snovi so bile nanesene na ličinke kontaktno. Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike med snovmi. EO-eterično olje, GE-glikolni ekstrakt, EE-etanolni ekstrakt, E-ekstrakt

Kontaktno sta najbolj delovala etanolni ekstrakt navadne breze in eterično olje bergamotke, saj so bili ti listi najmanj objedeni. Kafra, etanolni ekstrakt vinske rutice in ekstrakt vrtnega ognjiča niso delovali odvračalno, saj se stopnja poškodb ni statistično razlikovala od kontrole (slika 4).

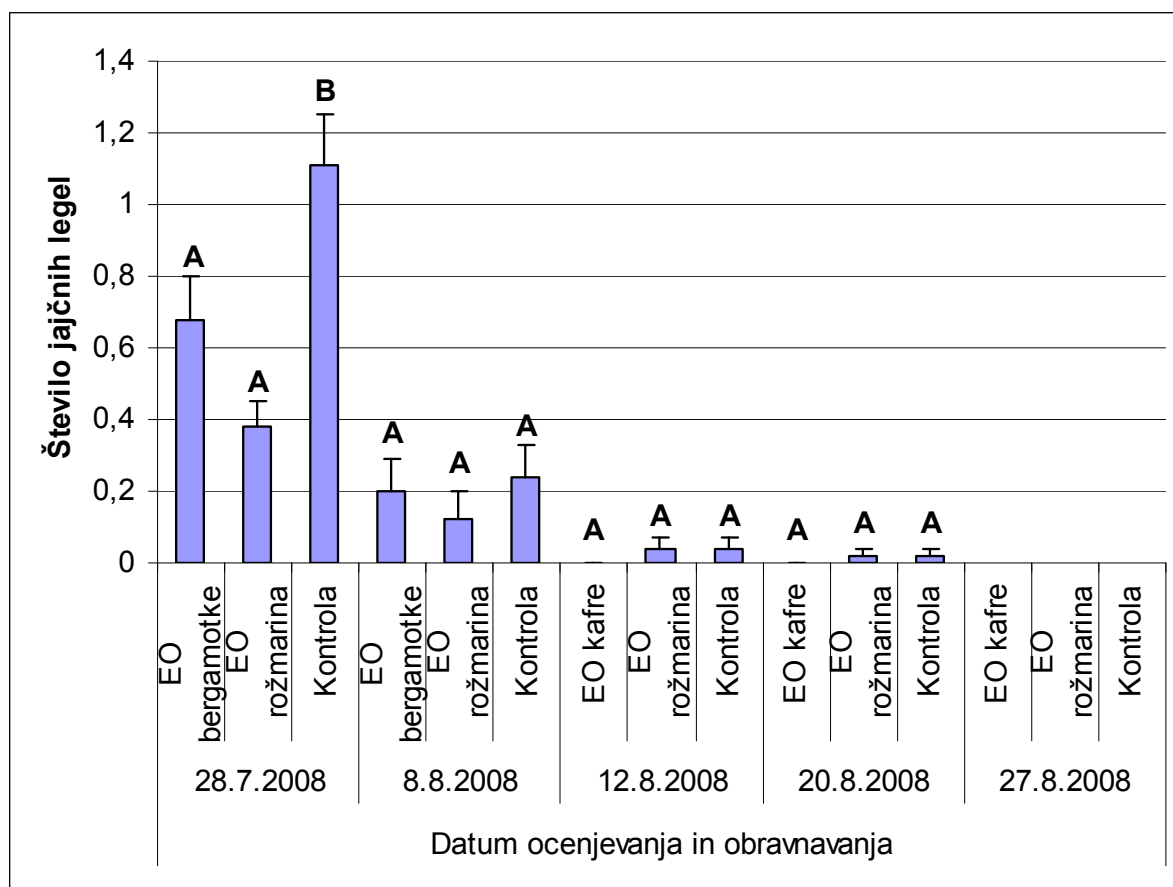
3.2 Poljski poskus

Generalna analiza je pokazala statistično manj poškodb na rastlinah, škropljenih z rožmarinom. Prav tako je bilo na teh rastlinah statistično manj ličink in odraslih osebkov koloradskega hrošča. Povprečna masa plodov je bila najnižja pri kontrolnem obravnavanju (494,5 g), pri rastlinah škropljenih z rožmarinom je bila 562 g, pri tistih škropljenih z eteričnim oljem bergamotke in eteričnim oljem kafe pa 868,6 g. Vsi plodovi so bili zaradi poškodb ličink in odraslih osebkov koloradskega hrošča tržno nezanimivi.



Slika 5: Število odraslih osebkov koloradskega hrošča na rastlino glede na posamezno obravnavanje (eterično olje bergamotke, eterično olje rožmarina in kontrola). Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike med obravnavanji znotraj enega ocenjevanja. EO-eterično olje

Število odraslih osebkov koloradskega hrošča na rastlino je bilo ob ocenjevanju po prvem škropljenju statistično najmanjše pri obravnavanju z eteričnim oljem rožmarina ($0,51 \pm 0,09$) (slika 5). Prav tako je bilo ob drugem štetju v obravnavanju z rožmarinom statistično manj hroščev na rastlino ($4,4 \pm 0,8$) kot v kontrolnem obravnavanju ($10,58 \pm 1,97$). V naslednjih ocenjevanjih med omenjenima obravnavanjema ni bilo statističnih razlik v številu hroščev (slika 5).

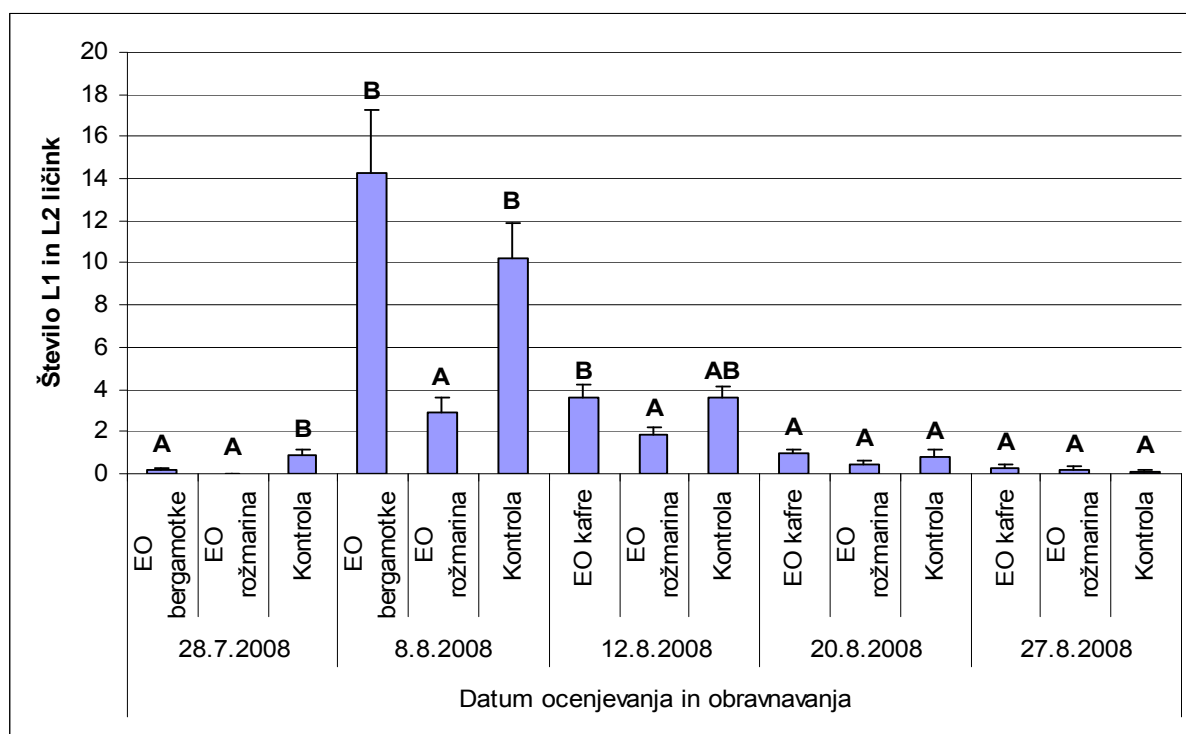


Slika 6: Število jajčnih legel koloradskega hrošča na rastlino glede na posamezno obravnavanje (eterično olje bergamotke, eterično olje rožmarina in kontrola). Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike med obravnavanji znotraj enega ocenjevanja. EO-eterično olje

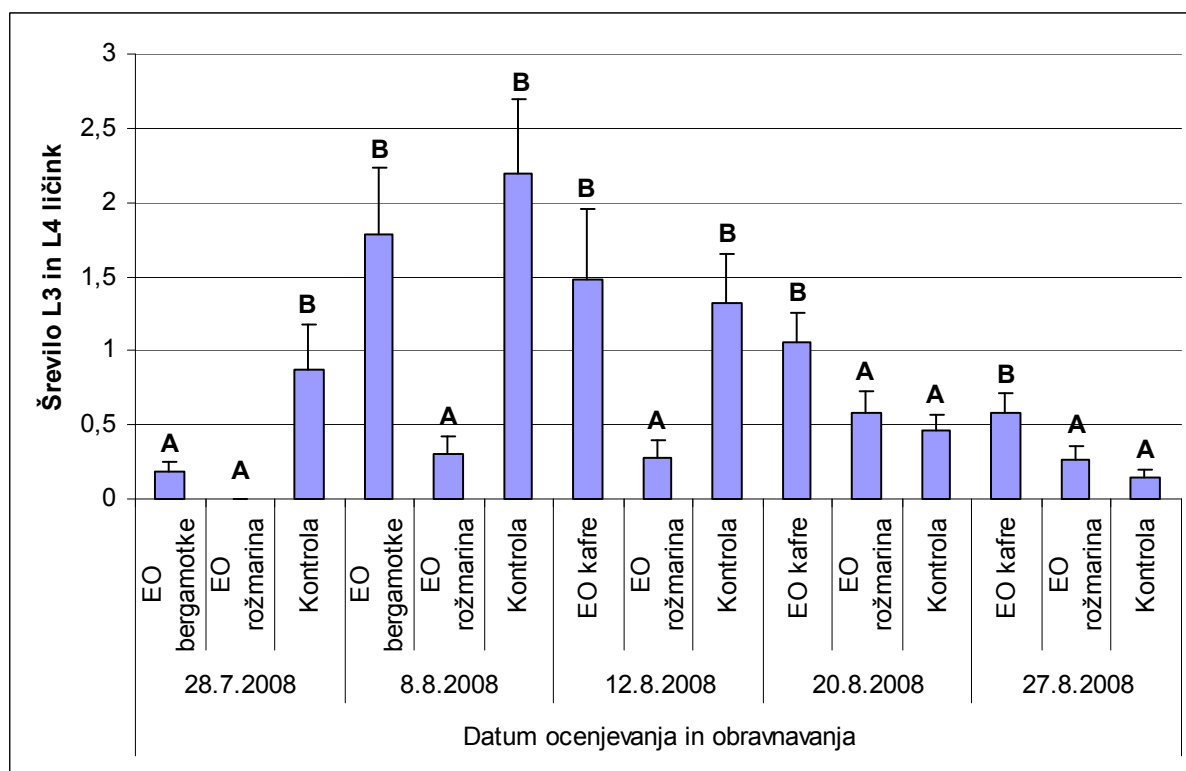
Število jajčnih legel je bilo po prvem škropljenju signifikantno manjše pri obravnavanjih z obema eteričnima oljema v primerjavi s kontrolo, kasneje pa se nista signifikantno razlikovali od kontrolnega obravnavanja. Po prvem škropljenju je bilo kritično število 0,5 jajčnega legla na rastlino, ki velja sicer za rastline krompirja (Priručnik..., 1983), preseženo pri kontrolnem obravnavanju ($1,11 \pm 0,14$) in pri obravnavanju z eteričnim oljem bergamotke ($0,68 \pm 0,12$) (slika 6).

Po prvem škropljenju je bilo signifikantno manj mladih ličink na rastlinah tretiranih z eteričnima oljema (bergamotka $0,18 \pm 0,07$ in rožmarin 0 ± 0) v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem ($0,87 \pm 0,3$). Kontaktno je najbolje delovalo eterično olje rožmarina, saj je bilo ob drugem številu za več kot trikrat manj mladih ličink na rastlino kot pri kontroli (slika 7).

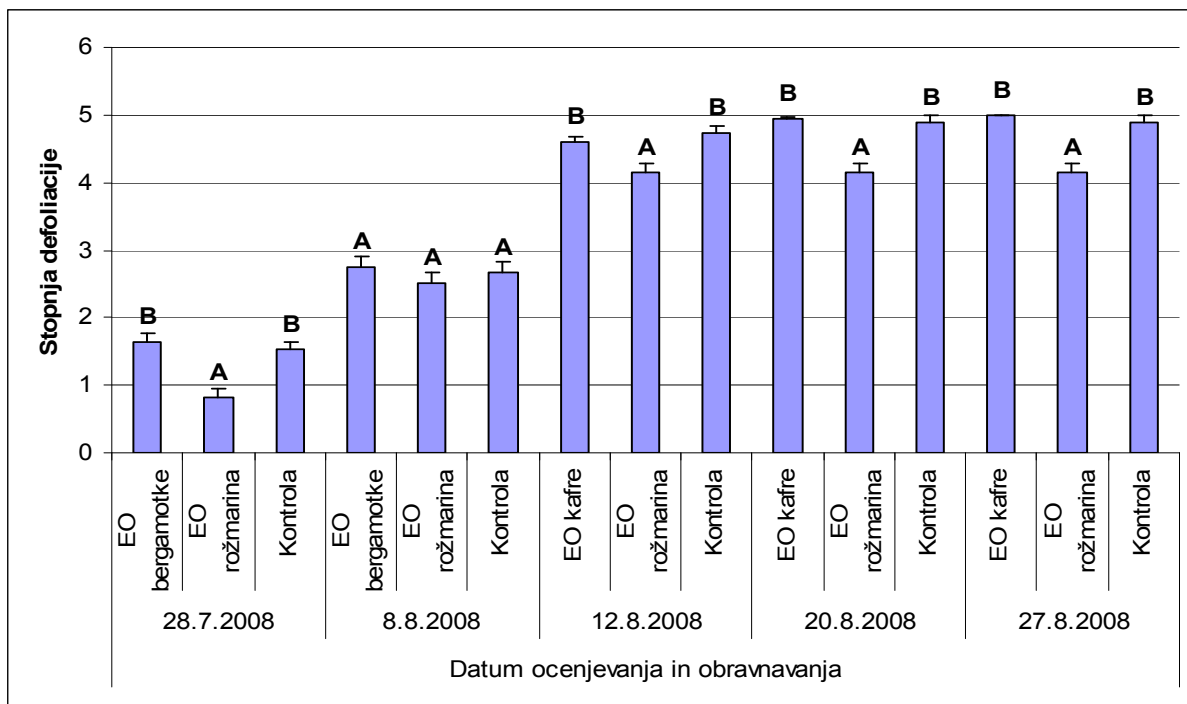
Stopnja defoliacije je bila po prvem škropljenju pri obravnavanju z rožmarinom signifikantno manjša ($0,83 \pm 0,11$) kot pri ostalih dveh obravnavanjih in je tudi ostala manjša ves čas bonitiranja. Kljub temu, da je eterično olje rožmarina pokazalo dobro kontaktno delovanje na odrasle osebkke (slika 10), je bila defoliacija ob zadnjem ocenjevanju četrte stopnje in več, kar pomeni od 51 do 75 % defoliacijo. Konec avgusta se je številčnost škodljivca zmanjšala (diapavza hroščev) in rastline jajčevca so se obrasle. Kljub temu pa te rastline niso dajale nobenega tržnega pridelka (slika 8).



Slika 7: Število L1 in L2 ličink koloradskega hrošča na rastlino glede na posamezno obravnavanje (eterično olje bergamotke, eterično olje rožmarina in kontrola). Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike med obravnavanji znotraj enega ocenjevanja. EO-eterično olje



Slika 8: Število L3 in L4 ličink koloradskega hrošča na rastlino glede na posamezno obravnavanje (eterično olje bergamotke, eterično olje rožmarina in kontrola). Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike med obravnavanji znotraj enega ocenjevanja. EO-eterično olje



Slika 9: Povprečna stopnja defoliacije glede na posamezno obravnavanje (eterično olje bergamotke, eterično olje rožmarina in kontrola). Različne črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike med obravnavanji znotraj enega ocenjevanja. EO-eterično olje



Slika 10: Dobro kontaktno delovanje na odrasle osebkje koloradskega hrošča je izkazalo eterično olje rožmarina.

4 SKLEPI

4.1 Laboratorijski poskus

- V večini primerov so bili tretirani listi signifikantno manj objedeni kot kontrolni listi.
- Najmanjši vpliv sta na škodljivca imela kafa in ekstrakt vrtnega ognjiča, saj se v večini primerov nista signifikantno razlikovala od kontrole.
- Na odrasle osebkke koloradskega hrošča je najbolj repelentno deloval etanolni ekstrakt vinske rutice, pri kontaktnem nanosu pa je objedanje najbolj zavrlo eterično olje kafe.
- Najbolj odvrčalno je na ličinke koloradskega hrošča deloval glikolni ekstrakt navadnega gabeza, kontaktno pa sta najbolje delovala etanolni ekstrakt navadne breze in eterično olje bergamotke.

4.2 Poljski poskus

- Rezultati poljskega poskusa so pokazali signifikantno manj odraslih osebkov, mladih in starih ličink na rastlinah, ki so bile tretirane z eteričnim oljem rožmarina (1.8, 1.6, 0.24) kot v obravnavanju z bergamotko (3.0, 4.0, 0.88) in v kontrolnem obravnavanju (3.4, 3.5, 0.98).
- Rastline so bile signifikantno manj poškodovane v obravnavanju z rožmarinom, kot pri ostalih dveh.
- Signifikantno največ jajčnih legel na rastlino je bilo na kontrolnem obravnavanju.
- Eterično olje rožmarina je dobro kontaktno delovalo na odrasle osebkke.
- Stopnja defoliacije je bila ob zadnjem ocenjevanju več kot 75 %.
- Kljub temu, da je bila masa plodov pri obravnavanjih z eteričnimi olji višja kot pri kontroli, pa so bili vsi plodovi zaradi poškodb ličink in odraslih osebkov koloradskega hrošča tržno nezanimivi.

5 ZAHVALA

Rezultati, predstavljeni v tem prispevku, so bili pridobljeni s finančno pomočjo Javne agencije za raziskovalno dejavnost RS in podjetja Unichem d.o.o. v okviru aplikativnega projekta L4-1013.

6 LITERATURA

- Al-Jabr A. M. 2006. Toxicity and repellency of seven plant essential oils to *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences), 7: 49-60
- Al-Jabr A. M. 2008. Toxicity, repellency and bioactivity of seven plant oils to storage pest *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) on wheat. Journal of Food Science and Technology, 45: 520-523
- Albert-Puleo M. 1978. Mythobotany, pharmacology, and chemistry of thujone-containing plants and derivatives. Journal of Economic Botany, 32: 65-74
- Alfaro R. I., Pierce H.D., Borden J. H., Oehlschlager A. C. 1981. Insect feeding and oviposition deterrents from western red cedar foliage. Journal of Chemical Ecology, 7: 39-48
- Alexenizer M., Dorn A. 2007. Screening of medicinal and ornamental plants for insecticidal and growth regulating activity. Journal of Pest Science, 80: 205-215
- Amer S. A. A., Refaat A. M., Momen F. M. 2001. Repellent and oviposition-detering activity of rosemary and sweet marjoram on the spider mites *Tetranychus urticae* and *Eutetranychus orientalis* (Acari: Tetranychidae). Acta Phytopathol. Entomol. Hung., 36: 155-164
- Benedicto L. H., Bergmann E. C., Potenza M. R., Sato M. E., Nishimori R. K. 1998. Evaluation of the control of *Opogona sacchari* (Bojer, 1856) (Lepidoptera: Tineidae) using plant extracts in laboratory conditions. Arquivos do Instituto Biologico (Sao Paulo), 65: 21-27

- Cutler G. C., Scott-Dupree C. D., Tolman J. H., Harris C. R. 2007. Field efficacy of novaluron for control of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) on potato. *Crop Protection*, 26: 760-767
- Fit N., Rapuntean G., Nadas G., Cuc C., Calina D., Gegesi I. 2007. Antibacterial effect of *Albiens alba* and *Lavandula angustifolia* oily extracts on various bacterial species. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, 64: 1/2, 570
- Hwang Y. S., Wu K. H., Kumamoto J., Axelrod H., Mulla M. S. 1985. Isolation and identification of mosquito repellents in *Artemisia vulgaris*. *Journal of Chemical Ecology*, 11: 1297-1306
- Isman M. B., Wilson J. A., Bradbury R. 2008. Insecticidal activities of commercial rosemary oils (*Rosmarinus officinalis*) against larvae of *Pseudaletia unipuncta* and *Trichoplusia ni* in relation to their chemical compositions. *Pharmaceutical Biology*, 46: 82-87
- JiSen H., ErrLieh H. 2005. The repellent effect of several repellent plants on the mosquito and house fly. *Formos. Entomol.*, 25: 221-230
- Koschier E. H., Sedy K. A. 2003. Labiate essential oils affecting host selection and acceptance of thrips tabaci Linderman. *Crop Protection*, 22: 929-934
- Koul O. 2005. Insect antifeedants. CRC Press LLC, 1005 str.
- Landolt P. J., Hofstetter R. W., Biddick L. L. 1999. Plant essential oils as arrestants and repellents for neonate larvae of the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, 28: 954-960
- Maceljiski M. 1999. Poljoprivredna entomologija. Zrinski, Čakovec: 464 str.
- Medeiros C. A. M., Boica Junior A. L., Torres, A. L. 2005. Effect of plants aqueous extracts on oviposition of the diamondback, in kale. *Bragantia*, 64: 227-232
- Medvedeva N. I., Flekhter O. B., Galin F. Z. 2006. The antifeedant activity of allobetulin and its derivatives towards the *Colorado potato* beetle larvae. *Resistant Pest Management Newsletter*, 15: 43-45
- Mauchline A. L., Osborne J. L., Martin A. P., Poppy G. M., Powell, W. 2005. The effects of non-host plant essential oil volatiles on the behaviour of the pollen beetle *Meligethes aeneus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 114: 181-188
- Oliva A., Meepagala K. M., Wedge D. E., Harries D., Hale A. L., Aliotta G., Duke S. O. 2003. Natural fungicides from *Ruta graveolens* L. leaves, including a new quinolone alkaloid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 890-896
- Papachristos D. P., Stamopoulos, D. C. 2002. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38: 117-128
- Pascual-Villalobos M. J. 1998. Repellency, growth inhibition and toxicity of plant extracts to *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*: 24: 143-154
- Patočka, J., Plucar, B. 2003. Pharmacology and toxicology of absinthe. *Journal of Applied Biomedicine*, 1: 199-205
- Priručnik izveštajne i prognozne službe zaštite poljoprivrednih kultura. 1983. Beograd,
- Petauer T. 1993. Leksikon rastlinskih bogastev. Tehniška založba Slovenije, 684 str.
- Regnault-Roger C., Hamraoui A. 1993. Influence of aromatic essential oils on *Acanthoscelides obtectus* Say, pest of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Acta Botanica Gallica*, 140: 217-222
- Saderi H., Owlia P., Radmanesh M. 2006. Antimicrobial effect of hydro-alcoholic and aqueous extracts of *Ruta graveolens* L. against *Staphylococcus aureus*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 22: 366-372
- Sasanelli N., D'Addabbo T. 1993. Effect of *Cineraria maritima*, *Ruta graveolens* and *Tagetes erecta* leaf and root extracts on Italian populations of *Meloidogyne* species. *Nematologia Mediterranea*, 21: 21-25
- Scott I. M., Jensen H. R., Nicol R., Lesage L., Bradbury R., Sanchez-Vindas P., Poveda L., Arnason J. T., Philogene B. J. R. 2004. Efficacy of *Piper* (Piperaceae) extracts for control of common home garden insect pests. *Journal of Economic Entomology*, 97: 1390-1403
- Scott I. M., Jensen H. R., Philogene B. J. R., Arnason J. T. 2008. a review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochemistry Reviews*, 7: 65-75
- Singh S. S., Patro B., Tripathi V., Srivastava A., Pandey S. C., Ghosh A. C. 2002. Betulinic acid and its pharmacological activity - a review. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 24: 1031-1037
- Vrabl S. 1992. Škodljivci poljščin. ČZP Kmečki glas, Ljubljana: 142 str.

- Wawrzyniak M. 1994. Effect of selected Boraginaceae plant extracts on feeding and development of the cabbage white butterfly (*Pieris brassicae*). Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych, 414: 265-272
- Wyrostkiewicz K., 1992. Influence of extracts of selected plant species on feeding and development of the colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* say). Akademia Techniczno-Rolnicza, Poland, 71 str.

NARAVNA ODPORNOST ZELJA NA NAPAD TOBAKOVEGA RESARJA (*Thrips tabaci* Lindeman, Thysanoptera, Thripidae) IN PISANE STENICE (*Eurydema ventrale* Kolenati, Heteroptera, Pentatomidae)

Stanislav TRDAN¹, Helena ROJHT², Nevenka VALIČ³, Irena VOVK⁴, Mitja MARTELANC⁵, Breda SIMONOVSKA⁶, Rajko VIDRIH⁷, Dragan ŽNIDARČIČ⁸

¹Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

²Kemijski inštitut, Laboratorij za prehrabeno kemijo, Ljubljana

³Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Katedra za tehnologije, prehrano in vino, Ljubljana

IZVLEČEK

V prispevku so predstavljeni rezultati iz prvega leta triletnega poljskega poskusa (2006-2008), v katerem smo preučevali škodljivost tobakovega resarja (*Thrips tabaci*) in pisane stenice (*Eurydema ventrale*) na 20 genotipih zelja. V letu 2006 smo v vseh genotipih določili vsebnost 11 sestavin zeljnih listov (epikutikularni vosek, α -amirin, β -amirin, lupeol, saharoza, glukoza, fruktoza, vitamin C, palmitinska kislina, stearinska kislina in arahidinska kislina) in preučili njihov vpliv na naravno odpornost zelja na napad omenjenih škodljivcev. Vsebnost epikutikularnega voska smo v vseh genotipih določili tudi v drugem in tretjem letu raziskave. V poljski poskus je bilo vključenih 9 zgodnjih, 5 srednje zgodnjih in 6 srednje poznih genotipov (glede na dolžino rastne dobe), 3 rdeči in 17 belih genotipov (glede na barvo), 14 hibridov in 6 sort (glede na poreklo). Pri obeh preučevanih vrstah škodljivih žuželk smo negativno korelacijo med obsegom poškodb in vsebnostjo epikutikularnega voska na listih zelja potrdili za vse umetno ustvarjene skupine genotipov zelja v naši raziskavi.

Ključne besede: naravna odpornost, tobakov resar, *Thrips tabaci*, pisana stenica, *Eurydema ventrale*, zelje, epikutikularni vosek, poškodbe

ABSTRACT

NATURAL RESISTANCE OF CABBAGE AGAINST ONION THRIPS (*Thrips tabaci* Lindeman, Thysanoptera, Thripidae) AND CABBAGE STINK BUG (*Eurydema ventrale* Kolenati, Heteroptera, Pentatomidae) ATTACK

The results of 3-years (2006-2008) field trial on harmfulness of onion thrips (*Thrips tabaci*) and cabbage stink bug (*Eurydema ventrale*) on 20 cabbage genotypes will be presented. In 2006, the mass of 11 compounds of cabbage leaves (epicuticular wax, α -amyrin, β -amyrin, lupeol, sucrose, glucose, fructose, C vitamin, palmitic acid, stearin acid, and arachidic acid) was determined, and their influence on natural resistance of cabbage against the pests in question was studied. In a field trial the following genotypes were included: 9 early, 5 mid-

¹ izr. prof., dr. agr. znan., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana; e-mail: stanislav.trdan@bf.uni-lj.si

² asist., mag. agr. znan., mlada raziskovalka, prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ dr. kem. znan., Hajdrihova 19, SI-1000 Ljubljana

⁵ univ. dipl. inž. kem., mladi raziskovalec, prav tam

⁶ dr. kem. znan., prav tam

⁷ doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

⁸ dr. agr. znan., prav tam

early, 6 mid-late (regarding the longevity of growing period), 3 red, 17 white (regarding the colour), 14 hybrids and 6 varieties (regarding genetic origin). For all groups of cabbage genotypes (in those we artificially placed genotypes with similar characters) only between the extent of damage and epicuticular wax content on the cabbage leaves negative correlation was confirmed for both sucking insect pests.

Key words: natural resistance, onion thrips, *Thrips tabaci*, cabbage stink bug, *Eurydema ventrale*, cabbage, epicuticular wax, damage

1 UVOD

Zelje je v Sloveniji pomembna vrtnina, saj so ga domači zeljarji leta 2008 pridelovali na 841 ha. Omenjeno vrtnino napada relativno veliko različnih škodljivcev, med katerimi so številčno in tudi po gospodarskem pomenu najpomembnejša skupina žuželke. Med njimi se pri nas občasno ali redno pojavljajo kapusov belin (*Pieris brassicae* [L.]), kapusova muha (*Delia radicum* L.), kapusova hržica (*Contarinia nasturtii* [Kieffer]), kapusov molj (*Plutella xylostella* [L.]), kapusova sovka (*Mamestra brassicae* [L.]), kapusove stenice (*Eurydema* spp.), tobakov resar (*Thrips tabaci* Lindeman), kapusovi bolhači (*Phyllotreta* spp.), pa tudi nekatere druge vrste.

Število insekticidov za zatiranje škodljivih žuželk se postopoma zmanjšuje. V tehnoloških navodilih za integrirano pridelavo zelenjave v Sloveniji v letu 2008 (RS MKGP, 2009) tako za zatiranje nekaterih škodljivcev sploh ni več na voljo kemičnih pripravkov. Pomanjkanje znanja o alternativnih načinih zmanjševanja škodljivosti omenjenih organizmov lahko velikokrat pripelje do zmanjšanja gospodarnosti pridelave živeža. S tem namenom na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo od začetka novega tisočletja preučujemo okoljsko sprejemljive načine zmanjševanja gospodarskega pomena škodljivcev, zlasti na zelju in čebuli.

Nadgradnjo aplikativnih raziskav na omenjeni katedri (Trdan in sod., 2005 a, b, c; Trdan in sod., 2006a, b) predstavljajo naše temeljne raziskave naravne odpornosti zelja, katerih začetki segajo v leto 2003, ko smo potrdili negativno korelacijo med vsebnostjo epikutikularnega voska na listih zelja in obsegom poškodb zaradi sesanja ličink in odraslih osebkov tobakovega resarja na njih (Trdan in sod., 2004). V nedavno zaključenem triletnem projektu (2006-2008) smo želeli določiti tudi povezave med vsebnostjo drugih sestavin listov zelja in obsegom poškodb zaradi hranjenja tobakovega resarja, kapusovih stenic, kapusove sovke in kapusovih bolhačev na njih.

V integriranem načinu pridelave kapusnic za zatiranje tobakovega resarja in kapusovih stenic ni na voljo insekticidov. Izbira ustreznih kultivarjev, s poudarkom na njihovi kemični sestavi, je zato pomemben biotični dejavnik odpornosti rastlinske vrste na izbranega škodljivca (Ciepiela in sod., 1999). V delu raziskave, ki ga obravnava pričujoči prispevek, smo želeli ugotoviti vpliv izbire kultivarjev zelja na škodljivost tobakovega resarja in pisane stenice (*Eurydema ventrale* Kolenati), ki je pri nas prevladujoča vrsta kapusovih stenic na kapusnicah. Delovna hipoteza raziskave je bila, da različne sestavine v/na listih zelja različno vplivajo na škodljivost preučevanih vrst sesajočih žuželk na tej vrtnini in v tej zvezi določajo odpornost ali občutljivost kultivarjev nanju.

2 MATERIAL IN METODE DE LA

2.1 Poljski poskus

Poljski poskus, katerega rezultati so predstavljeni v tem prispevku, je potekal v obdobju 2006-2008 na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani. Pridelava sadik in

zasnova poskusa sta opisana v prispevku Trdana in sod. (2008), še več podatkov o agrotehničnih ukrepih v pričujočem in sorodnih poskusih pa podajajo Trdan in sod. (2007).

V poskus smo vključili 20 genotipov zelja iz treh skupin (zgodnji [Z], srednje zgodnji [SZ] in srednje pozni [SP]), ki so bile oblikovane glede na dolžino rastne dobe zelja (Z – od 55 do 70 dni, SZ – od 80 do 90 dni in SP – od 110 do 140 dni). Med omenjenimi genotipi je bilo 14 hibridov ('R1-Cross F1', 'Hinova F1' [oba SP], 'Pandion F1', 'Sunta F1', 'Delphi F1', 'Tucana F1', 'Ixxion F1', 'Autumn queen F1', 'Destiny F1', 'Green rich F1' [vsi Z], 'Red dynasty F1', 'Cheers F1', 'Fieldforce F1', 'Vestri F1' [vsi SZ]) in 6 sort ('Futoško' [SZ], 'Kranjsko okroglo', 'Ljubljansko', 'Holandsko rdeče', 'Varaždinsko' [vsi SP], 'Erfurtsko rdeče' [Z]).

V prvem letu poskusa smo prvo ocenjevanje poškodb zaradi hranjenja pisane stenice izvedli 26. maja, drugo ocenjevanje pa 15. junija. V drugem letu poskusa smo ocenjevanje poškodb zaradi stenic opravili 10. maja in 25. maja, v tretjem letu pa 26. maja. Za ocenjevanje poškodb zaradi stenic na listih vseh in zaradi tobakovega resarja na zunanjih listih glav smo uporabili 6-stopenjsko lestvico. Gre za rahlo modifikacijo 5-stopenjske lestvice Stonerjeve in Sheltona (1988), ki sta jo razvila za potrebe poskusov z vrsto *Thrips tabaci* na zelju, mi pa smo jo v preteklosti uporabili v namene preučevanja škodljivosti tobakovega resarja (Trdan in sod., 2007) in kapusovih stenic (Trdan in sod., 2006 a): (1) brez poškodb, (2) ≤ 1 % poškodovane listne površine, (3) 2-10 % poškodovane listne površine, (4) 11-25 % poškodovane listne površine, (5) 25-50 % poškodovane listne površine, (6) > 50 % poškodovane listne površine. Pri prvem ocenjevanju (v vseh treh letih) smo poškodbe pisane stenice ocenjevali na celi rastlini, pri drugem ocenjevanju (samo v prvem letu) pa na zunanjih listih (vehah); obakrat na petih rastlinah na vsaki parceli. Poškodbe zaradi tobakovega resarja smo ocenjevali ob pobiranju pridelka, ki je potekalo, v odvisnosti od dolžine rastne dobe preučevanih genotipov zelja, od konca junija do konca julija.

2.2 Laboratorijski poskus

2.2.1 Ekstrakcija epikutikularnega voska, sestavin epikutikularnega voska in drugih sestavin listov zelja

Ta del poskusa je potekal le v prvem letu raziskave. Postopki ekstrakcije so opisani v prispevku Trdana in sod. (2008).

2.3 Statistična analiza

Vrednosti povprečnih indeksov poškodb na listih zelja smo ovrednotili z analizo variance, za ugotavljanje statistično značilnih razlik med povprečji pa smo uporabili Student-Newman-Keulsov preizkus mnogoterih primerjav ($P \leq 0.05$). Korelacije med indeksi poškodb na listih in maso posameznih sestavin listov smo izračunali z linearno regresijsko analizo ($y=kx+n$). Pred izračunom korelacij (r ali Pearsonov koeficient korelacije) smo preučevane genotipe zelja razvrstili v 8 umetno ustvarjenih skupin: 1) vseh 20 genotipov, 2) 9 zgodnjih genotipov, 3) 5 srednje zgodnjih genotipov, 4) 6 srednje poznih genotipov, 5) 3 genotipi rdečega zelja, 6) 17 genotipov belega zelja, 7) 14 hibridov in 8) 6 sort. Vse statistične analize so bile narejene s programom Statgraphics Plus for Windows 4.0 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc., Maryland). V preglednici 1 predstavljeni rezultati so netransformirana povprečja \pm SE. Povprečni indeksi poškodb na listih zelja zaradi hranjenja obeh vrst škodljivcev in pridelki zelja niso predstavljeni v tem prispevku.

3 REZULTATI Z DISKUSIJO

Z generalno statistično analizo smo ugotovili signifikanten vpliv genotipa na obseg poškodb zaradi pisane stenice na vehah zelja in zaradi tobakovega resarja na zunanjih listih glav ($P < 0.0001$ v obeh zgledih). Povprečni indeksi poškodb zaradi sesanja pisane stenice so se sicer

med genotipi zelja razlikovali manj kot tisti, pridobljeni z ocenjevanjem poškodb zaradi tobakovega resarja.

Povprečna masa epikutikularnega voska je med preučevanimi genotipi znašala od 18,73 (sorta 'Ljubljansko') do 51,71 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (sorta 'Holandsko rdeče'), povprečna masa α -amirina od 0,0127 (sorta "Holandsko rdeče") do 0,1161 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (hibrid 'Red dynasty'), povprečna masa β -amirina od 0,0111 (hibrid 'R1-Cross') do 0,1262 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (hibrid 'Red dynasty'), povprečna masa lupeola od 0,0819 (sorta 'Kranjsko okroglo') do 0,8015 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (hibrid 'Tucana'), povprečna masa vsote amirinov in lupeola od 0,1347 (sorta 'Ljubljansko') do 0,8773 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (hibrid 'Tucana'), povprečna masa saharoze od 10,0 (sorta 'Kranjsko okroglo') do 754,3 mg/100 g (sorta 'Ljubljansko'), povprečna masa glukoze od 2202,7 (sorta 'Varaždinsko') do 3049,6 mg/100 g (hibrid 'Delphi'), povprečna masa fruktoze od 1214,9 (sorta 'Varaždinsko') do 2273,9 mg/100 g (hibrid 'Delphi'), povprečna masa C vitamina od 36,3 (sorta 'Holandsko rdeče') do 67,6 mg/100 g (hibrid 'Hinova'), povprečna masa palmitinske kisline od 22,01 (hibrid 'Fieldforce') do 30,97 mg/100 g (sorta 'Kranjsko okroglo'), povprečna masa stearinske kisline od 2,88 (hibrid 'Hinova') do 7,99 mg/100 g (sorta 'Kranjsko okroglo') in povprečna masa arahidinske kisline od 1,40 (sorta 'Erfurtsko rdeče') do 4,38 mg/100 g (sorta 'Ljubljansko').

Za vseh osem skupin genotipov zelja smo potrdili negativno korelacijo med povprečno maso epikutikularnega voska in obsegom poškodb na listih zaradi sesanja obeh preučevanih vrst škodljivih žuželk, kar potrjuje rezultate naših prejšnjih raziskav (Trdan in sod., 2004). Največjo r vrednost (-0.749) za tobakovega resarja smo potrdili pri skupini rdečih genotipov, takoj za tem pa pri skupini sort. Res pa je, da smo signifikantno korelacijo ugotovili le pri skupini vseh 20 genotipov.

Med vsebnostjo sestavin epikutikularnega voska (to so triterpenoidi α -amirin, β -amirin in lupeol) in povprečnimi indeksi poškodb smo ugotovili pri obeh sesajočih vrstah žuželk zelo različne korelacijske koeficiente. Pri tobakovem resarju smo ugotovili močno negativno korelacijo med poškodbami in obema oblikama amirina v zgodnjih genotipih, medtem ko smo pri srednje poznih genotipih ugotovili močno pozitivno korelacijo. Negativno korelacijo smo potrdili tudi med poškodbami zaradi pisane stenice in vsebnostjo β -amirina pri zgodnjih genotipih zelja. Poškodbe zaradi tobakovega resarja so bile tudi v pozitivni korelaciji z vsoto triterpenoidov v rdečih genotipih zelja.

Obe obliki amirinov sta bili v predhodnih raziskavah najdeni v kultivarjih zelja z bleščečimi listi, takšno zelje pa je bilo bolj odporno na napad kapusovega molja (*Plutella xylostella* [L.]). Nasprotno pa v občutljivih kultivarjih zelja (z nebleščečimi listi) amirinov niso našli (Eigenbrode in sod., 1991). V raziskavi z zimzeleno azalejo (*Rhododendron* spp.), ki je bila občutljiva na napad stenice *Stephanitis pyrioides* [Scott], so ugotovili, da ima rastlina manjšo vsebnost obeh oblik amirinov, v primerjavi z manj občutljivimi hibridi (Balsdon in sod., 1995). Še vedno ne dovolj preučen pomen epikutikularnega voska, so poskušali razjasniti v raziskavi z 10 genotipi soje, pri katerih so potrdili razlike v vsebnostih α -amirina, β -amirina and lupeola. Zanimivo pa je, da razlike med temi snovmi, niso bile v korelaciji s številčnostjo ščitkarjev na soji (Lambert in sod., 1995)

Vpliv vsebnosti sladkorjev za škodljivost resarjev je bila doslej že preučevana. Tako so Brown in sod. (2002) ugotovili, da se je cvetlični resar (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) manj številčno pojavljal na delih rastlin, ki so vsebovali več karbohidratov, zlasti saharoze, glukoze in fruktoze. Isti avtorji so še potrdili, da topne beljakovine bolj vplivajo na ustreznost rastlin za resarja kot ogljikovi hidrati. To je verjetno ena od razlag za precej spremenljive koeficiente korelacije med obsegom poškodb in vsebnostjo vseh treh oblik ogljikovih hidratov v naši raziskavi. V njej smo namreč potrdili le zmerno negativno korelacijo med poškodbami in vsebnostjo glukoze in fruktoze v listih genotipov belega zelja.

Preglednica 1: Koeficienti korelacije med povprečnimi indeksi poškodb na listih zelja zaradi hranjenja tobakovega resarja (*Thrips tabaci*) in povprečno maso 11 različnih sestavin zeljnih listov

Hibrid/ Sorta	EV	α	β	L	Σ	S	G	F	C	PK	SK	AK
Vsi	-0,556 **	-0,004	0,053	0,070	0,079	0,153	-0,370	-0,235	-0,044	0,061	0,399	0,454
Zgodnji	-0,579	-0,725 ***	-0,853 **	0,609	0,469	0,311	0,073	-0,095	-0,834 **	0,652	0,618	0,807 ***
Srednje zgodnji	-0,362	0,708	0,506	-0,246	0,249	- 0,719	0,955	0,116	0,970	- 0,181	0,686	- 0,013
Srednje pozni	-0,508	0,930*	0,876**	-0,517	-0,196	0,091	-0,773	-0,398	0,527	- 0,697	0,232	0,280
Rdeči	-0,749	0,824	0,951	0,854	1,000*	0,734	-0,430	-0,401	-0,239	- 0,443	0,992 ***	0,849
Zeleni	-0,240	0,058	0,260	-0,050	-0,006	0,068	-0,628 **	-0,605 **	-0,248	0,139	0,213	- 0,220
Hibrid	-0,463	-0,190	-0,262	0,273	0,160	0,387	-0,401	-0,199	-0,373	0,534	0,630 ***	0,455
Sorta	-0,628	0,356	0,633	-0,518	-0,240	0,151	-0,617	-0,401	0,307	- 0,277	0,263	0,450

Legenda: EV (epikutikularni vosek, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), α (α -amirin, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), β (β -amirin, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), L (lupeol, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), Σ (vsota amirinov in lupeola, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), S (saharoza, mg/100 g), G (glukoza, mg/100 g), F (fruktoza, mg/100 g), C (vitamin C, mg/100 g), PK (palmitinska kislina, mg/100 g), SK (stearinska kislina, mg/100 g), AA (arahidinska kislina, mg/100 g), * statistično značilna povezava pri 99 % stopnji zaupanja, ** statistično značilna povezava pri 95 % stopnji zaupanja, *** statistično značilna povezava pri 90 % stopnji zaupanja

Preglednica 2: Koeficienti korelacije med povprečnimi indeksi poškodb na listih zelja zaradi hranjenja pisane stenice (*Eurydema ventrale*) in povprečno maso 11 različnih sestavin zeljnih listov

Hibrid/ Sorta	EV	α	β	L	Σ	S	G	F	C	PK	SK	AK
Vsi	-0,681*	- 0,046	-0,309	0,333	0,269	0,239	0,082	0,227	0,076	0,012	0,538 **	0,636 **
Zgodnji	-0,787**	- 0,407	-0,680***	0,606	0,547	0,526	0,099	0,117	- 0,867**	0,375	0,719	0,906 **
Srednje zgodnji	-0,632	0,025	-0,263	0,854	0,456	- 0,916	0,999**	0,454	0,994** *	- 0,511	0,391	0,336
Srednje pozni	- 0,764***	0,283	-0,051	-0,443	- 0,437	0,528	-0,303	0,251	0,229	- 0,340	0,562	0,917 **
Rdeči	-0,694	0,602	0,351	-0,482	0,045	- 0,647	-0,921	0,897	0,960	- 0,915	- 0,082	- 0,491
Zeleni	-0,288	0,221	-0,077	0,355	0,392	0,203	0,053	0,052	-0,178	0,028	0,481	0,247
Hibrid	- 0,529***	- 0,095	-0,352	0,380	0,264	0,242	0,020	0,058	0,098	0,063	0,573	0,566
Sorta	-0,960*	0,128	-0,008	-0,536	- 0,504	0,536	0,009	0,395	0,154	- 0,050	0,560	0,934 **

Legenda: enako kot pri preglednici 1.

Povezava med poškodbami zaradi resarjev in vsebnostjo vitamina C v rastlinah, je bila doslej preučevana le na poru (Legutowska in Tomczyk, 1999). Rezultati naše raziskave kažejo na precejšnje razlike korelacijskih koeficientov med 8 skupinami genotipov. Tako smo na primer pri tobakovemu resarju ugotovili le zelo šibko negativno korelacijo z vsebnostjo

epikutikularnega voska ob upoštevanju vseh 20 genotipov, pri zgodnjih genotipih pa smo potrdili močno negativno korelacijo. Slednja je veljala tudi za obseg poškodb pisane stenice na zgodnjih genotipih, zelo močno pozitivno korelacijo pa smo ugotovili med vsebnostjo vitamina C in škodljivostjo stenice na srednje zgodnjih genotipih.

Tudi vpliv maščobnih kislin pri odpornosti rastlin na napd žuželk je bil doslej le redko preučevan. V eni od takšnih raziskav so potrdili skromno antifidantno delovanje takšnih snovi na vrsto *Hylobius abietis* (Borg-Karlson in sod., 2006). Rezultati naše raziskave kažejo nejasen trend povezave med tremi oblikami maščobnih kislin in obsegom poškodb zaradi preučevanih škodljivcev. Še najmočnejša povezava je bila pozitivna korelacija med obsegom poškodb in vsebnostjo stearinske kisline v rdečih genotipih in hibridih zelja.

4 SKLEPI

Na podlagi analize dela rezultatov naše raziskave naravne odpornosti zelja na izbrane škodljivce ugotavljamo, da ima od 11 preučevanih sestavin te vrtnine na tobakovega resarja in pisano stenico največji vpliv epikutikularni vosek. Oba parametra v tej zvezi doslej še nista bila preučevana na relaciji zelje-škodljivca, zato pomeni naša ugotovitev novost na področjih kmetijske entomologije in okoljsko sprejemljivega zatiranja škodljivcev vrtnin (poljščin). Izbira genotipa (sorte, hibrida) zelja je zato pomemben biotični dejavnik (agrotehnični ukrep) omejevanja škodljivosti obeh vrst na zelju, pričujoči prispevek pa omogoča izbiro ustreznega genotipa na dva načina; prek rezultatov triletnega poljskega poskusa (aplikativni način) ali prek rezultatov laboratorijskih poskusov (temeljni način). Pot do slednjih je nekoliko daljša in dražja, a je po našem mnenju objektivnost v laboratoriju pridobljenih rezultatov večja kot v poljskem poskusu, saj so manj podvrženi abiotičnim in biotičnim dejavnikom ter številnim interakcijam med njimi.

5 ZAHVALA

Rezultati, predstavljeni v tem prispevku, so bili pridobljeni z raziskovalnih delom na temeljnem projektu J7-7390 in programu Hortikultura P4-0013, katera financira Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije. Za tehnično pomoč pri poskusu se zahvaljujemo Aleksandru Bobnarju.

6 LITERATURA

- Balsdon, J.A., Espelie, K. E., Braman, S. K. 1995: Epicuticular lipids from azalea (*Rhododendron* spp.) and their potential role in host plant acceptance by azalea lace bug, *Stephanitis pyrioides* (Heteroptera: Tingidae). *Biochem. Syst. Ecol.* 23: 477-485.
- Brown, A.S.S., Simmonds, M.S.J., Blaney, W.M. 2002: Relationship between nutritional composition of plant species and infestation levels of thrips. *J. Chem. Ecol.* 28, 2399-2409.
- Eigenbrode, S.D., Espelie, K.E., Shelton, A. M. 1991: Behaviour of neonate diamondback moth larvae [*Plutella xylostella* (L.)] on leaves on extracted leaf waxes of resistant and susceptible cabbages. *J. Chem. Ecol.* 17: 1691-1704.
- Gil, M.I., Ferreres, F., Tomas-Barberan, F.A. 1999: Effect of postharvest storage and processing on the antioxidant constituent (flavonoids and vitamin C) of fresh-cut spinach. *J. Agric. Food Chem.* 84: 35-43.
- Legutowska, H., Tomczyk, A. (1999): Population level of thrips in relation to chemical composition of leek leaves intercropping with clover. *Progress Plant Prot.* 39, 467-469.
- RS MKGP (2009): Tehnološka navodila za integrirano pridelavo zelenjave v letu 2009. 105 str. www.mkgp.gov.si
- Trdan, S., Žnidarčič, D., Zlatič, E., Jerman, J. (2004): Correlation between epicuticular wax content in the leaves of early white cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) and damage caused by *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae). *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.*, 39, 173-185.

- Trdan, S., Milevoj, L., Žežlina, I., Raspudić, E., Anđus, L., Vidrih, M., Bergant, K., Valič, N., Žnidarčič, D. (2005a): Feeding damage by onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera, Thripidae), on early white cabbage grown under insecticide-free conditions. *Afr. Entomol.* 13, 85-95.
- Trdan, S., Valič, N., Žežlina, I., Bergant, K., Žnidarčič, D. (2005b). Light blue sticky boards for weight trapping of onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae), in onion crops: fact or fantasy? *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz – J. Plant Dis. Prot.* 112, 173-180.
- Trdan, S., Valič, N., Žnidarčič, D., Vidrih, M., Bergant, K., Zlatič, E., Milevoj, L. (2005c): The role of Chinese cabbage as a trap crop for flea beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in production of white cabbage. *Sci. Hortic.* 106: 12-24.
- Trdan, S., Žnidarčič, D., Valič, N. (2006a): Field efficacy of three insecticides against cabbage stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) on two cultivars of white cabbage. *Int. J. Pest Manag.* 52, 79-87.
- Trdan, S., Žnidarčič, D., Valič, N., Rozman, L., Vidrih, M. (2006b): Intercropping against onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) in onion production: on the suitability of orchard grass, lacy phacelia, and buckwheat as alternatives for white clover. *J. Plant Dis. Prot.* 113, 24-30.
- Trdan, S., Valič, N., Žnidarčič, D. (2007): Field efficacy of deltamethrin in reducing damage caused by *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) on early white cabbage. *J. Pest Sci.* 80, 217-223.
- Trdan, S., Valič, N., Anđus, Lj., Vovk, I., Martelanc, M., Simonovska, B., Jerman, J., Vidrih, R., Vidrih, M., Žnidarčič, D. (2008): Which plant compounds influence the natural resistance of cabbage against onion thrips (*Thrips tabaci* Lindeman)? *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 43, 381-391.
- Trdan, S., Valič, N., Vovk, I., Martelanc, M., Simonovska, B., Vidrih, R., Žnidarčič, D. (2008): Naravna odpornost zelja na napad kapusovih bolhačev (*Phyllotreta* spp., Coleoptera, Chrysomelidae). V: Tajnšek, A. (ur.). *Novi izzivi v poljedelstvu 2008: zbornik simpozija [Rogaška Slatina, 4. in 5. decembra 2008]*. Ljubljana: Slovensko agronomsko društvo: 279-286.

SPREMLJANJE POJAVA ŠKODLJIVCEV IN KORISTNIH ORGANIZMOV NA PARADIŽNIKU, PAPRIKI IN KUMARAH V ZAVAROVANIH PROSTORIH

Iris ŠKERBOT¹, Lea MILEVOJ², Stanislav TRDAN³

¹KGZS – zavod Celje

^{2,3}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

V letu 2007 smo na treh lokacijah na širšem celjskem območju (Loka pri Zidanem Mostu, Zavrh pri Galiciji in Mestinje) ugotavljali zastopanost škodljivcev in njihovih naravnih sovražnikov na paradižniku, papriki in kumarah, gojenih v zavarovanih prostorih. Pojav škodljivcev in koristnih organizmov smo spremljali s pomočjo ulova na barvne lepljive plošče (rumene in modre) in z vizualnimi pregledi rastlin od začetka maja do začetka oktobra 2007. Namen raziskave je bil proučiti vrste, čas pojavljanja ter zastopanost škodljivcev in koristnih organizmov na obravnavanih kulturah. Rezultati spremljanja so potrdili znano dejstvo, da se koristni organizmi pogosteje pojavljajo v posevkih, kjer uporabljamo manj fitofarmaceutskih sredstev. Pojav škodljivih in koristnih vrst je odvisen od vremenskih razmer. V prispevku so predstavljene škodljive in koristne vrste, ki smo jih zasledili ter dinamika pojavljanja posameznih vrst in njihova medsebojna odvisnost.

Ključne besede: rastlinski škodljivci, koristni organizmi, paradižnik, paprika, kumare, zavarovani prostori, monitoring

ABSTRACT

SURVEY OF PESTS AND BENEFICIAL ORGANISMS ON TOMATO, PEPPER AND CUCUMBER PRODUCED IN GREENHOUSES

In year 2007 we have studied the occurrence of the pests and the beneficial organisms on tomato, pepper and cucumber produced in greenhouses on three location the area of Celje (Loka pri Zidanem Mostu, Zavrh pri Galiciji and Mestinje). The occurrence of the pests and the beneficial organisms was monitored with yellow and blue sticky traps and visual control of the plants from the beginning of May till the beginning of October 2007. The aim of the research was to study the species and the seasonal dynamics of the pests and the beneficial organisms in the observed culture. The results of the monitoring also confirmed the fact that the beneficial organisms occur more frequently on the plants where fewer chemicals were sprayed. We established that the weather conditions have high influence on the dynamics of the pests and the beneficial organisms. In the article, the species of the pests and the beneficial organisms that were detected are presented, as well as the occurrence dynamics of some species and their mutual dependence is discussed.

Key words: pests, beneficial organisms, tomato, pepper, cucumber, greenhouse, monitoring

¹univ. dipl. inž. agr., Mestni trg 7, SI-3310 Žalec

²red. prof. dr., v pokoju, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

³Izr. prof. dr., prav tam

1 UVOD

Pridelava zelenjadnic ima zlasti v bližini večjih mest v Sloveniji že dolgoletno tradicijo. Pridelovalci večino zelenjadnic pridelujejo na prostem, v zavarovanih prostorih pretežno pridelujejo paradižnik, papriko, solatne kumare, jajčevce ter solato in motovilec. Glavna pridelave solate in motovilca je terminsko vezana na pozno poletno do pomladno pridelavo. Posamezne vrtnine si zato v zavarovanih prostorih navadno sledijo v zelo ozkem kolobarju. Posledice te odločitve najbolj občutijo sami pridelovalci, saj se na vrtninah pogosteje pojavljajo škodljivi organizmi (predvsem bolezni in škodljivci), ki so vezani na takšen način pridelave in otežkočajo zatiranje.

V želji po izvajanju okolju prijaznega načina varstva rastlin in težnji po učinkovitem zatiranju najpomembnejših škodljivcev v zavarovanih prostorih mnogi pridelovalci pogosto razmišljajo o izvajanju biotičnega varstva rastlin. Navadno imajo premalo znanja in praktičnih izkušenj s tem načinom varstva rastlin, kar trenutno predstavlja poglavitno oviro za izvajanje množičnega razmnoževalnega varstva – inokulativnih vnosov koristnih organizmov. Glede na naravne danosti na našem območju, majhnost mnogih kmetij na katerih pridelujejo zelenjadnice, pestrost različnih kultur na gospodarstvu,... ima večina kmetij na širšem celjskem območju in tudi drugje po Sloveniji ustrezne razmere za izvajanje varovalnega biotičnega varstva. Varovalno biotično varstvo je usmerjeno k izvajanju agrotehničnih ukrepov, ki vzpodbujajo preživetje, privabljanje in naseljevanje številnih domorodnih (avtohtonih) koristnih vrst. Ker se spremljanja pojavnosti škodljivcev in koristnih vrst na paradižniku, papriki in kumarah, gojenih v zavarovanih prostorih prej nismo sistematično lotili, je veliko sklepanj na njihovo zastopanost in pojavljanje ter povezave med njimi temeljilo na izkušnjah iz tujine in drugih samostojnih raziskavah posameznih vrst, ki se pojavljajo pri nas. Zato smo si za cilj naše raziskave zadali proučitev vrst, čas njihovega pojavljanja ter zastopanost škodljivcev in koristnih organizmov na paradižniku, papriki in kumarah, gojenih v zavarovanih prostorih na širšem celjskem območju.

2 MATERIALI IN METODE

V letu 2007 smo spremljali pojav škodljivih in koristnih organizmov v zavarovanih prostorih na treh lokacijah na širšem celjskem območju: Loka pri Zidanem Mostu (lokacija 1), Zavrh pri Galiciji (lokacija 2) in Mestinje (lokacija 3). V pridelovalni sezoni smo spremljali pojav škodljivih in koristnih organizmov na paradižniku, papriki, kumarah in jajčevcu, gojenih v opazovanih zavarovanih prostorih. Na lokaciji 1 smo v raziskavo vključili zavarovan prostor velikosti 1.440 m², ki je lociran na nadmorski višini 240 m. V njem so v obdobju od 15. aprila do 1. oktobra 2007 pridelovali papriko (hibrid Red knight), paradižnik (hibrid Jeremy) in kumare (hibrid Di Nero). Na lokaciji 2 smo spremljali manjši zavarovani prostor v velikosti 320 m², ki je lociran na nadmorski višini 370 m. V njem so v obdobju od 27. aprila do 20. septembra 2007 pridelovali papriko (hibrida Bianca in Planika ter sorto Kalifornijsko čudo) in paradižnik (hibrida Rely in Monroe F1 ter sorto Volovsko srce). Na lokaciji 3 smo spremljali pridelavo v zavarovanem prostoru velikosti 1.135 m², lociranem na nadmorski višini 236 m, v katerem so od 20. aprila do 5. oktobra 2007 pridelovali paradižnik (hibrid Belle) in kumare (hibrid Di Nero).

Na vseh lokacijah je bil paradižnik posajen v dvovrstnem sistemu na grebenih, razdalja med vrstami je bila 80 cm, v vrsti 50 cm. Na lokaciji 1 in 2 so papriko pridelovali v dvovrstnem sistemu na grebenih, razdalja med vrstami je bila 50 cm, v vrsti 25 cm. Na lokacijah 1 in 3 so kumare pridelovali v enovrstnem sistemu na grebenih, razdalja med rastlinami v vrsti je bila 50 cm. Na lokaciji 1 in 3 so bili grebeni prekriti s črno folijo, na lokaciji 2 je bila pridelava na golih tleh. Vse posevke so namakali in dognojevali s kapljičnim namakanjem (na lokaciji 1 in 3 je bil sistem nameščen pod folijo).

Na lokaciji 1 in 2 pridelujejo zelenjavo po načelih integrirane pridelave. V letu 2006 na lokaciji 1 niso uporabljali fitofarmaceutskih sredstev, na izbrani lokaciji 2 so v letu 2006 le enkrat v juliju na papriki in kumarah z akaricidi zatirali navadno pršico (*Tetranychus urticae*). Na lokaciji 3 pridelujejo zelenjavo na konvencionalen način in v letu 2006 so na kumarah z akaricidi zatirali navadno pršico (*Tetranychus urticae*) in na paradižniku opravili dve tretiranji z insekticidi proti rastlinjakovemu ščitkarju (*Trialeurodes vaporariorum*).

Za opazovanje smo v začetku pridelovalne sezone v posameznih zavarovanih prostorih naključno izbrali nekaj skupin rastlin:

- lokacija 1: 4 skupine z 8 rastlinami paradižnika, 3 skupine z 10 rastlinami paprike in 2 skupini z 2 rastlinami kumar,
- lokacija 2: 3 skupine z 8 rastlinami paradižnika, 3 skupine s 4 rastlinami paprike,
- lokacija 3: 8 skupine z 8 rastlinami paradižnika, 6 skupine s 3 rastlinami kumar

in preko leta vizualno spremljali pojav škodljivcev in koristnih organizmov na gojenih rastlinah. Preglede smo opravljali v obdobju med 4. majem in 25. septembrom 2007 na 10 do 16 dni in redno zapisovali opažanja. Enkrat mesečno smo iz izbranih in opazovanih rastlin vzorčili še škodljive in koristne organizme ter jih do determinacije shranili v 75 % alkoholu. V istih zavarovanih prostorih smo pojav škodljivih in koristnih vrst spremljali še s pomočjo rumenih in modrih lepljivih plošč (velikost 8 x 13 cm, proizvajalca Rebell). Plošče smo v zavarovane prostore obesili na začetku raziskave in jih po 1 mesecu zamenjali z novimi. Na lokaciji 1 smo namestili tri rumene in tri modre lepljive plošče. Plošče iste barve smo obesili v nizu eno nad drugo na višino 1,5, 1,9 in 2,3 m nad tlemi. Na lokaciji 2 smo izobesili eno rumeno in eno modro lepljivo ploščo. Na lokaciji 3 smo izobesili dve rumeni in dve modri lepljivi plošči. Na lokacijah 2 in 3 smo plošče obesili na vrvico, tako, da je bil spodnji rob plošče 20 cm nad gojeno rastlino in ploščo skladno z rastjo gojene rastline ustrezno dvigovali. Determinacijo smo opravili na podlagi makroskopskih in stereomikroskopskih pregledov zbranih vzorcev in determinacijskih ključev (Malais in Ravensberg, 2003).

S priročnim minimalno-maksimalnim termometrom smo v času poteka raziskave merili minimalne in maksimalne temperature zraka v zavarovanih prostorih. Na podlagi spremljanja klimatskih razmer in pojava škodljivih organizmov smo skušali poiskati povezave med pojavnostjo in zastopanostjo škodljivih in koristnih organizmov.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V preglednici 1 so prikazani rezultati vizualnega spremljanja pojava škodljivcev in koristnih vrst na izbranih rastlinah paradižnika, paprike in kumar po posameznih lokacijah. V začetku rasti se na papriki in kumarah pojavljajo listne uši in resarji. Za resarje je značilno, da se med cvetenjem skrivajo v cvetovih ali na plodičih. S sesanjem rastlinskih sokov poškodujejo cvetove, ki ob močnejšem napadu odpadejo ali poškodujejo plodič, da je kasneje plod iznakažen po videzu. Tudi v naših spremljanjih smo potrdili znano dejstvo, da se resarji pretežno zadržujejo v cvetovih paprike in delno tudi kumar. Na kumarah so zastopani tudi na listih. V odvisnosti od populacije škodljivcev in vremenskih razmer so povprečno v 3 do 5 dneh po pojavu prvih škodljivcev v posevkih tudi njihovi naravni sovražniki. Zasedili smo odrasle osebkke cvetne plenilke *Orius majusculus*, odložena jajčeca navadne tenčičarice (*Chrysoperla carnea*) in kasneje tudi parazitirane listne uši z osico najezdnico *Aphidius matricariae* ter ličinke trepetavke *Episyrphus balteatus*. V juniju razmere za razvoj škodljivcev niso bile najbolj ugodne kar so potrdili tudi vizualni pregledi rastlin. V juliju je bilo vroče obdobje z manj padavinami, kar se je odrazilo tudi na pojavljanju škodljivcev in koristnih vrst. V juliju in v avgustu smo zasedili predvsem navadno pršico (*Tetranychus urticae*) in rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum*). Navadna pršica je bila predvsem na zgornjih, mladih listih paprike, najprej ob listnih žilah, kasneje po celotni listni površini ter na mlajših listih kumar. Na paradižniku smo pri vizualnih pregledih zasedili posamično resarje in listne uši, ki pa niso

paradižnika naselila v tolikšnem obsegu, da bi lahko pričakovali gospodarsko škodo in bi bilo potrebno zatiranje. Večjo nevarnost za paradižnik predstavlja rastlinjakov ščitkar. Na paradižniku smo prve odrasle osebkke opazili konec prve dekade julija, odložena jajčeca pa šele v mesecu avgustu. Po pregledu plevelov v medvrstnem prostoru ali ob robovih zavarovanega prostora smo potrdili domnevo, da se rastlinjakov ščitkar v vmesnem obdobju razmnožuje pretežno na plevelih. S povečanjem populacije se seli na paradižnik in se na njem intenzivno prehranjuje in razmnožuje do spravila pridelka oziroma odstranitve rastlin na koncu pridelovalne sezone.

Preglednica 1: Dinamika pojava škodljivcev in koristnih organizmov na opazovanih lokacijah v obdobju od 5. maja do 25. septembra 2007

Datum opravljene ga pregleda	Lokacija 1			Lokacija 2		Lokacija 3	
	Število osebkov škodljivih ali koristnih organizmov / število rastlin s škodljivcem ali koristnim organizmom						
	paprika (pregled 30 rastlin)	paradižnik (pregled 40 rastlin)	kumare (pregled 4 rastlin)	paprika (pregled 12 rastlin)	paradižnik (pregled 24 rastlin)	kumare (pregled 18 rastlin)	paradižnik (pregled 64 rastlin)
04.05.	- 5 listnih uši / 3, - 4 resarji / 3, - 2 odloženi jajčeca navadne tenčičarice / 1, - 1 cvetna plenilka <i>Orius majusculus</i> / 1.	- 15 listnih uši / 10, - 3 resarji / 2.	Ni škodljivcev v in koristnih vrst.	Ni škodljivcev v in koristnih vrst.	Ni škodljivcev in koristnih vrst.	- 15 listnih uši / 10, - 8 resarjev / 3.	- 10 listnih uši / 10, - 4 resarji / 3.
11.05.	- 12 listnih uši / 6, - 14 resarjev / 9, - 3 bolhači / 2, - 4 odložena jajčeca navadne tenčičarice / 2, - 1 cvetna plenilka <i>Orius majusculus</i> / 1, - 2 ličinki trepetavke / 2.	- 4 listne uši / 4, - 15 resarjev / 7.	Ni škodljivcev v in koristnih vrst.	- 8 listnih uši / 3, - 4 cvetne plenilke <i>Orius majusculus</i> / 4.	- 9 listnih uši / 5.	- 18 listnih uši / 10, - 5 resarjev / 5, - 2 cvetni plenilki <i>Orius majusculus</i> / 2.	- 8 listnih uši / 5, - 5 resarjev / 5.
25.05.	- 10 listnih uši / 10, - 7 resarjev / 6,	Ni škodljivcev in koristnih vrst.	- 10 resarjev / 2, - 3 cvetne	- 2 resarja / 2, - 1 jajčece navadne	- 7 listnih uši / 3, - 2 cvetni plenilki	- 8 listnih uši / 8, - 8 resarjev / 6,	- 8 listnih uši / 8, - 8 resarjev /

	- 3 parazitirane uši / 3, - 1 ličinka sedempike polonice / 1, - 1 cvetna plenilka <i>Orius majusculus</i> / 1.		plenilke <i>Orius majusculus</i> / 3.	tenčičarice / 1.	<i>Orius majusculus</i> / 2.	- 3 parazitirane uši / 3.	6.
10.06.	- 3 listne uši / 3, - 3 resarji / 3.	- 6 listnih uši / 4.	- 28 resarjev / 4.	- 3 resarji / 3, - 1 jajčece navadne tenčičarice / 1, - 1 ličinka trepetavke / 1.	- 12 listnih uši / 5, - 3 parazitirane listne uši / 3.	- 9 listnih uši / 5, - 18 resarjev / 4.	- 5 listnih uši / 5, - 7 resarjev / 4.
25.06.	- 1 listna uš / 1, - 2 resarja / 2.	- 3 listne uši / 3, - 16 resarjev / 7.	- 40 resarjev / 4.	Ni škodljivcev in ne koristnih organizmov.	- 4 liste uši / 4, - 5 parazitiranih listnih uši / 5.	Ni škodljivcev in koristnih vrst.	Ni škodljivcev in koristnih vrst.
10.07.	- 20 resarjev / 13, - na zgornjih treh listih naseljena navadna pršica / 6.	- 3 rastlinjakovi ščitkarji / 3, - 2 jajčeci navadne tenčičarice / 2.	- 8 resarjev / 4, - 3 navadne pršice / 1. - 8 rastlinjakovih ščitkarjev / 2.	- 7 resarjev / 4 rastline, - 12 navadnih pršic / 4.	Ni škodljivcev in ne koristnih organizmov.	- 36 listnih uši / 6 rastlin, - 6 rastlinjakovih ščitkarjev / 2.	- 5 listnih uši / 5.
20.07.	- 25 resarjev / 20, - na 20 % vseh rastlin naseljena navadna pršica.	- 8 rastlinjakovih ščitkarjev / 5.	- 16 resarjev / 4, - 6 navadnih pršic / 3, - 12 rastlinjakovih ščitkarjev / 3.	- 5 resarjev / 4, - 15 navadnih pršic / 4.	- 2 rastlinjakova ščitkarja / 2.	- 40 resarjev / 18, - 20 navadnih pršic / 12, - 3 rastlinjakovih ščitkarjev / 3.	- 8 rastlinjakovih ščitkarjev / 8.
01.08.	- na 25 % vseh rastlin naseljena navadna pršica.	- 2 rastlinjakova ščitkarja / 2.	- 20 resarjev / 4, - 14 navadnih pršic / 4, - 15 rastlinjakovih ščitkarjev	- 8 resarjev / 4, - 20 navadnih pršic / 6.	- 3 listne uši / 3, - 4 rastlinjakovi ščitkarji / 4.	- 50 resarjev / 18, - 30 navadnih pršic / 18, - 16 rastlinjakovih ščitkarjev /	- 16 rastlinjakovih ščitkarjev / 10 rastlin.

			/ 4.			10 rastlin.	
13.08.	- na 30 % vseh rastlin naseljena navadna pršica.	Ni škodljivcev in ne koristnih vrst.	- 32 resarjev / 4, - 10 navadnih pršic / 4, - 18 rastlinjakovih ščitkarjev / 4.	- 12 resarjev / 6, - 28 navadnih pršic / 8.	- 2 listne uši / 1, - 5 rastlinjakovih ščitkarjev / 2.	pridelava zaključena	- 14 listnih uši / 12, - 24 rastlinjakovih ščitkarjev / 15 rastlin (prva odložena jajčeca).
20.08.	Ni škodljivcev in koristnih vrst (v času med pregledi opravljeno kemično zatiranje navadne pršice).	- 15 rastlinjakovih ščitkarjev / 7 (opazimo prva odložena jajčeca).	pridelava zaključena	- 10 resarjev / 8, - 35 navadnih pršic / 12.	- 5 listnih uši / 5, - 8 rastlinjakovih ščitkarjev / 6.	Kumare znova posajene	- 35 rastlinjakovih ščitkarjev / 20 rastlin, - 8 listnih uši / 8.
30.08.	- 5 navadnih pršic / 3, - 3 resarji / 3.	- 45 rastlinjakovih ščitkarjev / 16.	/	- 8 resarjev / 8, - 50 navadnih pršic / 12.	- 6 listnih uši / 6, - 10 rastlinjakovih ščitkarjev / 5 (tudi prva odložena jajčeca).	- 6 rastlinjakovih ščitkarjev / 2, - 3 listne uši / 3.	- 43 rastlinjakovih ščitkarjev / 30, - 6 listnih uši / 6.
12.09.	Ni škodljivcev in koristnih vrst.	- 90 rastlinjakovih ščitkarjev / 25.	/	pridelava zaključena	- 1 listna uš / 1, - 20 rastlinjakovih ščitkarjev / 10.	- 8 rastlinjakovih ščitkarjev / 8, - 3 navadne pršice / 2, - 8 resarjev / 4.	- 60 rastlinjakovih ščitkarjev / 40, - 2 listni uši / 2.
25.09.	pridelava zaključena	- 170 rastlinjakovih ščitkarjev / 40	/	/	pridelava zaključena	- 15 rastlinjakovih ščitkarjev / 10, - 2 resarja / 2.	- 90 rastlinjakovih ščitkarjev / 60.

Na papriki in kumarah smo ugotovili bombaževčevo uš (*Aphis gossypi*), sivo breskovo uš (*Myzus persicae*) in zeleno krompirjevo uš (*Aulacorthum solani*), cvetličnega resarja (*Franklinella occidentalis*) in tobakovega resarja (*Thrips tabaci*) ter navadno pršico (*Tetranychus urticae*). Na paradižnik preletajo krilati osebkci sive breskove uši (*Myzus persicae*), ki pa se v dveh do treh dneh prenehajo prehranjevati na rastlinah. Na paradižniku v pridelovalni sezoni ni kolonij listnih uši (Aphididae). Navadne pršice (*Tetranychus urticae*) na paradižniku ni bilo. Najpogosteje spremljani škodljivec na paradižniku na vseh opazovanih lokacijah je rastlinjakov ščitkar (*Trialeurodes*

vaporariorum). Od koristnih organizmov v opazovanih prostorih zasledimo navadno tenčičarico (*Chrysoperla carnea*), trepetavke *Episyrphus balteatus*, cvetno plenilko *Orius majusculus* in oso najezdnicu *Aphidius matricariae*. Pretežno so bili na papriki in kumarah, redkeje na paradižniku, kar potrjuje povezavo med pojavom škodljivcev in koristnih vrst. Koristni organizmi so pogosteje zastopani v zavarovanih prostorih, kjer ne uporabljajo ali manj pogosto uporabljajo fitofarmacevtska sredstva ter v zavarovanih prostorih v bližini katerih je pestrejša sestava rastlinskih vrst v okolici (cvetoči obrobki ob zavarovanem prostoru, pestrejši izbor pridelovanih kultur, ...).

Pojav in številčnost škodljivcev in koristnih vrst smo na opazovanih lokacijah spremljali tudi z rumenimi in modrimi lepljivimi ploščami. Na modre lepljive plošče so se lovili pretežno resarji, rastlinjakovega ščitkarja na njih ni bilo. Na rumene plošče se je lovil pretežno rastlinjakov ščitkar, listne uši in mnoge večje žuželke. Koristnih vrst na ploščah nismo zasledili. Časovno se je ulov škodljivcev na lepljivih ploščah ujema z rezultati vizualnih spremljanj rastlin. Izjema je rastlinjakov ščitkar, saj je njegova zastopanost na rumenih ploščah po številčnosti za povprečno 14 dni prehitevala njegov pojav in številčnost na opazovanih rastlinah, kar nakazuje na njegovo zastopanost v zavarovanih prostorih in zadrževanje na drugih rastlinah. Na lokaciji 1 je bilo na rumene in modre lepljive plošče preko celotnega spremljanega obdobja ujetih največ organizmov na ploščah, ki so bile obešene na višini 1,9 m nad tlemi.

Pri spremljanju pojava škodljivcev in koristnih organizmov nismo opazili razlik glede zastopanosti posameznih vrst na različnih sortah oziroma hibridih, vsekakor pa bi veljalo podrobnejšim spremljanjem v bodoče nameniti več raziskav.

4 SKLEPI

Na podlagi spremljanja škodljivcev in koristnih organizmov v treh zavarovanih prostorih lahko postavimo naslednje sklepe:

- Na papriki in kumarah smo najpogosteje zasledili bombaževčevo uš (*Aphis gossypi*), sivo breskovo uš (*Myzus persicae*) in zeleno krompirjevo uš (*Aulacorthum solani*), cvetličnega resarja (*Franklinella occidentalis*) in tobakovega resarja (*Thrips tabaci*). Na papriki ju zasledimo pretežno v cvetovih, na kumarah na zgornjih, mlajših listih.
- Na paradižnik kmalu po presajanju preletijo krilati osebki sive breskove uši (*Myzus persicae*), ki pa se v dveh do treh dneh prenehajo prehranjevati na rastlinah. Na paradižniku v pridelovalni sezoni ni kolonij listnih uši (Aphididae), občasno smo zasledili le posamične krilate osebkke.
- Na papriki in kumarah v vročih poletnih dneh, z nizko relativno zračno vlago, zasledimo navadno pršico (*Tetranychus urticae*), predvsem na zgornjih listih ob listnih žilah.
- Navadne pršice (*Tetranychus urtica*) na paradižniku nismo ugotovili.
- Najpogosteje spremljani škodljivec na paradižniku v vseh opazovanih primerih je rastlinjakov ščitkar (*Trialeurodes vaporariorum*), ki se na rastlinah množično pojavlja v drugi polovici pridelovalne sezone (od sredine avgusta do pozne jeseni). Na plevelih se pretežno zadržuje v prvem delu pridelovalne sezone in po odstranitvi pridelovanih rastlin jeseni.
- Od koristnih organizmov v opazovanih prostorih smo zasledili navadno tenčičarico (*Chrysoperla carnea*), cvetno plenilko *Orius majusculus*, trepetavko *Episyrphus balteatus* in najezdnika *Aphidius matricariae*.
- Koristni organizmi se v posevkih pojavijo nekaj dni po pojavu posameznih škodljivih organizmov in z zastopanostjo in številčnostjo sledijo populacijam škodljivcev.

- Več koristnih organizmov zasledimo v zavarovanih prostorih, kjer ne uporabljajo ali manj pogosto uporabljajo fitofarmacevtska sredstva ter v zavarovanih prostorih v bližini katerih je pestrejša sestava rastlinskih vrst v okolici (cvetoči obrobki ob zavarovanem prostoru, pestrejši izbor pridelovanih kultur, ...).

Rezultati spremljanja potrjujejo dejstva, da je zastopanost koristnih organizmov pogojena z vremenskimi razmerami, pogostostjo uporabe in izbiro fitofarmacevtskih sredstev ter pestrostjo rastlinskega sveta v okolici zavarovanih prostorov. V okolici zavarovanih prostorov so zastopane številne domorodne koristne vrste in smiselno je, da v bodoče naša agrotehnična opravila usmerimo v ustvarjanje razmeh za vzdrževanje in vzpodbujanje populacij koristnih vrst organizmov.

5 LITERATURA

- Albert, R., Allgaier, C., Schneller, H., Schrameyer, K. 2007. Biologischer Pflanzenschutz im Gewächshaus. Die Alternative für geschützte Räume. Stuttgart, Eugen Ulmer KG: 282 str.
- Gomboc, S. 1999. Škodljivci paradižnika, paprike in jajčevca. *Sodobno kmetijstvo*, 32, 5: 248-251
- Maceljski M., Cvjetković B., Ostojić Z., Igrc Barčić J., Pagliarini N., Oštrec L., Čizmić I. 1997. Zaštita povrća od štetočinja (štetnika, uzročnika bolesti i korova). Zagreb, Znanje, d.d.: 436 str.
- Malais, M. H., Ravensberg, W. J. 2003. Knowing and recognizing. *Biology of glasshouse pests and their natural enemies*. Berkel en Rodenrijs, Koppert B. V., 288 str.
- Milevoj L. 1999. Biotično varstvo jajčevca, paprike in paradižnika. *Sodobno kmetijstvo*, 32, 5: 252-255
- Pravilnik o biotičnem varstvu rastlin. *Ur.list RS*, 45/2006: 1-5.
- Škerbot, I., Milevoj, L. 2008. Biotični načini zatiranja škodljivcev. *Vrtnarstvo*, IV, 2: 12-14
- Škerbot, I., Milevoj, L. 2008. Biotično varstvo. Domorodne vrste koristnih organizmov, primerne za zatiranje najpogostejših škodljivcev na zelenjavi. *Vrtnarstvo*, IV, 3-4: 14-17

PARAZITOIDA *LYSIPHLEBUS FABARUM* IN *DIAERETIELLA RAPAE* V SLOVENIJI V LETIH 2006 IN 2008

Katarina KOS¹, Helena ROJHT², Stanislav TRDAN³

Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko,
poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

V letih 2006 in 2008 smo nabirali vzorce parazitoidov listnih uši v Sloveniji. Nabranih in identificiranih je bilo 2173 osebkov primarnih parazitoidov in med njimi je bilo 724 osebkov vrste *Lysiphlebus fabarum* in 801 osebkov *Diaeretiella rapae*. Največji razpon gostiteljskih rastlin je imela vrsta *Lysiphlebus fabarum*, ki smo jo našli na 17 različnih vrstah rastlin, ki jih uvrščamo v 9 različnih botaničnih družin. Vrsto *Diaeretiella rapae* smo našli na 5 rastlinskih vrstah iz družine kapusnic. 76 % nabranih parazitoidov vrste *Diaeretiella rapae* je bilo samic, medtem ko je bilo samic pri vrsti *Lysiphlebus fabarum* kar 96 % in le 4 % samcev. Parazitoid *Diaeretiella rapae* je komercialno razširjena vrsta za uporabo v biotičnem varstvu rastlin predvsem za zatiranje mokaste kapusove uši, *Brevicoryne brassicae*.

Ključne besede: biotično varstvo, *Diaeretiella rapae*, *Lysiphlebus fabarum*, naravni sovražniki, parazitoidi listnih uši, Slovenija

ABSTRACT

PARAZITIDS *LYSIPHLEBUS FABARUM* AND *DIAERETIELLA RAPAE* IN SLOVENIA IN 2006 AND 2008

In 2006 and 2008 samples of aphid parasitoids were collected in Slovenia. From samples we eliminated and identified 2173 individuals of aphid primary parasitoids; 724 individuals belonging to *Lysiphlebus fabarum* and 801 to *Diaeretiella rapae* species. Parasitoid *Lysiphlebus fabarum* had the widest range of host-plants; it was found on 17 different plant species from 9 botanical families. Parasitoids of *Diaeretiella rapae* species were found on 5 different plant species from Brassicaceae family. Sex ratio in our research was 76 % of female individuals in *Diaeretiella rapae* species, by *Lysiphlebus fabarum* sex ratio was 96 % of female and only 4 % of male parasitoids. Parasitoid *Diaeretiella rapae* is commercially available organism for the biological control of cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*.

Key words: aphid parasitoids, biological control, *Diaeretiella rapae*, *Lysiphlebus fabarum*, natural enemies, Slovenia

1 UVOD

Za zmanjšanje populacij in škode nastale zaradi škodljivcev, v biotičnem varstvu uporabljamo naravne sovražnike škodljivih organizmov. Tako se splošno sprejeta definicija biotičnega varstva glasi: "Biotično varstvo je uporaba živih organizmov za zatiranje populacije, za

¹ univ. dipl. inž. agr., asist. za področje varstvo rastlin, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² mag. agr. znan., mlada raziskovalka, prav tam

³ izr. prof., dr. agr. znan., prav tam

zmanjšanje populacije specifičnega škodljivega organizma ali zmanjšanje škode, ki bi nastala v primeru, če ga ne bi zatirali" (Eilenberg in sod., 2001).

Za biotično zatiranje rastlinam škodljivih organizmov se uporablja žive koristne organizme kot so plenilci, parazitoidi, entomopatogene ogorčice, entomopatogene glive, protozoi in bakulovirusi (Milevoj, 1997).

Paraziti ali zajedavci so entomofagne žuželke. Poseben tip parazitizma, ki se vedno konča s poginom gostitelja, izvajajo parazitoidi in ta tip parazitizma poznamo le pri žuželkah (*Enemigos naturales*, 1997). Za popoln razvoj parazitoida je potreben le en gostitelj, vendar se pogosto na enem samem gostitelju razvija več parazitoidov. Parazitoide lahko uvrstimo med plenilce in parazite. Kot plenilci vedno ubijejo gostitelja, katerega napadejo, kot paraziti pa potrebujejo le enega gostitelja, da se razvijejo do odraslega osebka (Godfray, 1994).

Najbolj znani so parazitoidi iz superdružine Ichneumonoidea, ki združuje družini Ichneumonidae in Braconidae, kateri skupaj vključujeta več kot 16.000 parazitoidnih vrst osic iz reda kožekrilcev (Hymenoptera) (Godfray, 1994). V gojitvenih laboratorijih gojijo manj kot 10 % vseh znanih vrst parazitoidov iz poddružin Aphidiidae in Aphelinidae, ki parazitirajo uši. Ta majhna skupina vključuje predvsem vrste iz rodov *Aphelinus*, *Aphidius*, *Diaeretiella*, *Ephedrus*, *Lysiphlebus*, *Praon*, *Binodoxys* in *Trioxys*, ki so že bile vključene v programe biotičnega zatiranja različnih gospodarsko pomembnih vrst uši. Iz poddružine Aphidiinae je znanih več kot 400 vrst parazitoidov iz 60 rodov in podrodov po celem svetu (Starý, 1970).

Vrsta *Diaeretiella rapae* (McIntosh) (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) je pomemben primarni parazitoid številnih vrst listnih uši, najbolj pomembne med njimi so mokasta kapusova uš (*Brevicoryne brassicae* [L.]), siva breskova uš (*Myzus persicae* [Sulzer]), krhlikova uš (*Aphis gossypii* Glover), čremsova uš (*Rhopalosiphum padi* [L.]), koruzna uš (*Rhopalosiphum maidis* [Fitch]) in ječmenova uš (*Diuraphis noxia* [Mordvilko]) (Elliott in sod., 1994; Pike in sod., 1999). V svetu je znanih več kot 60 različnih vrst uši, ki lahko služijo parazitoidu *Diaeretiella rapae* kot gostitelji (Pike *et al.*, 1999). Zhang in sodelavci so (Zhang in sod., 2003) ugotovili, da vrsta *D. rapae* parazitira vse stadije razvoja mokaste kapusove uši in ne preferira le velikih, že razvitih uši. To je pomembno s stališča potomstva uši, saj parazitirana prvi in drugi razvojni stadij nimf uši nista dala nadaljnjega potomstva, medtem ko so se starejše nimfe uši in odrasli osebki po parazitiranju še lahko omejeno razmnoževali.

Parazitoid *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) je polivoltilna vrsta in je najpomembnejši parazitoid pri omejevanju populacij črne fižolove uši (*Aphis fabae* Scopoli) na številnih posevkih in ostalih zelnatih rastlinah. Parazitira listne uši iz rodov *Aphis*, *Brachycaudus*, *Hyalopterus*, *Myzus*, *Sitobion*, *Rhopalosiphum* in druge. Stopnja parazitiranosti raste med rastno dobo skupaj z naraščanjem populacij uši. Meyhöfer in Klug (2002) sta ugotovila, da se parazitiranost poveča ob prisotnosti mravelj, ki se hranijo z medeno roso uši. V nasprotju s tem je splošno znano dejstvo, da se naravni sovražniki uši izogibajo populacijam mravelj, saj jih le-te poškodujejo ali ubijejo, medtem ko vrsta *L. fabarum* s pomočjo mimikrije neovirano parazitira populacije uši, saj ni kompeticije z ostalimi parazitoidi in plenilci. Če pa v populaciji uši ni prisotnih mravelj, se stopnja parazitiranosti uši z vrsto *L. fabarum* močno zmanjša (Meyhöfer in Klug, 2002; Völkl and Stechmann, 1998; Raymond in sod., 2000).

2 MATERIAL IN METODE

V letih 2006 in 2008 smo v aprilu začeli z vzorčenjem parazitoidov listnih uši v kmetijskih ekosistemih na območju Slovenije. Parazitoide smo vzorčili na vrtninah, poljščinah, sadnih in okrasnih rastlinah ter na plevelih in drugih negojenih rastlinah v bližini posevkov. V Sloveniji se dotlej še ni tako obširno ugotavljalo zastopanosti parazitoidov listnih uši, zato smo se v sklopu Katedre za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo na Biotehniški fakulteti, Univerze v Ljubljani povezali s Fakulteto za biologijo, Univerze v

Beogradu. Prof. dr. Željko Tomanović nam je pomagal pri identifikaciji parazitoidov listnih uši, medtem ko nam je listne uši identificirala prof. dr. Olivera Petrović-Obradović s Kmetijske fakultete v Zemunu, Univerze v Beogradu. Metodo vzorčenja smo prilagodili razvoju parazitoidov v njihovem gostitelju. V lončke smo nabrali žive listne uši ter ušje mumije, skupaj z gostiteljsko rastlino, ki je listnim ušem omogočala nadaljnji razvoj in s tem tudi razvoj parazitoida v listnih ušeh (Brajković in Tomanović, 2005; Kos, 2007; Kos in sod., 2008). Iz označenih vzorcev smo po 3 do 4 tednih izločili mrtve parazitoidne listnih uši in jih skupaj z vzorci listnih uši, ki so bile shranjene v Eppendorfovih tubicah s 70 % raztopino etanola poslali v identifikacijo v Beograd.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

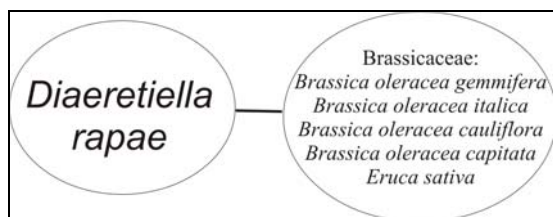
Na območju Slovenije je bilo v letih 2006 in 2008 nabranih in identificiranih 2173 osebkov primarnih parazitoidov. Ugotovili smo 30 vrst parazitoidov listnih uši iz 8 rodov, ki spadajo v poddružino Aphidiinae.

Vrsti parazitoidov *Lysiphlebus fabarum* in *Diaeretiella rapae* sta zelo razširjeni, zato smo ju našli skoraj na vseh območjih Slovenije. Omenjeni vrsti sta bili tudi najbolj številčni. Od 1808 nabranih in identificiranih osebkov parazitoidov listnih uši v letu 2008, je bilo osic vrste *Lysiphlebus fabarum* 617, od tega je bilo 591 osebkov samic, osebkov vrste *Diaeretiella rapae* pa je bilo kar 777; 599 osebkov je bilo samic (preglednica 1).

Preglednica 1: Število samcev in samic ter skupno število parazitoidov vrst *Lysiphlebus fabarum* in *Diaeretiella rapae* nabranih v Sloveniji v letih 2006 in 2008.

Table 1: Number of males and females and whole number of parasitoids *Lysiphlebus fabarum* and *Diaeretiella rapae* collected in Slovenia in 2006 and 2008.

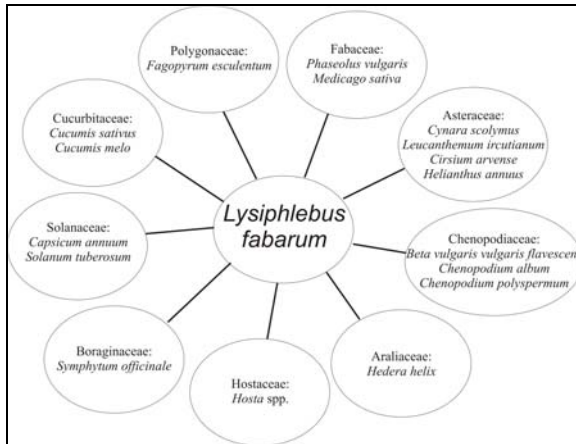
Vrsta parazitoida	2006			2008			Skupaj 2006 in 2008
	Število samic	Število samcev	Skupaj	Število samic	Število samcev	Skupaj	
<i>Lysiphlebus fabarum</i>	104	3	107	591	26	617	724
<i>Diaeretiella rapae</i>	10	14	24	599	178	777	801



Sliki 1 in 2: Gostiteljske rastline parazitoida *Diaeretiella rapae* iz družine križnic in samica parazitoida vrste *Diaeretiella rapae* (slika: K. Kos).

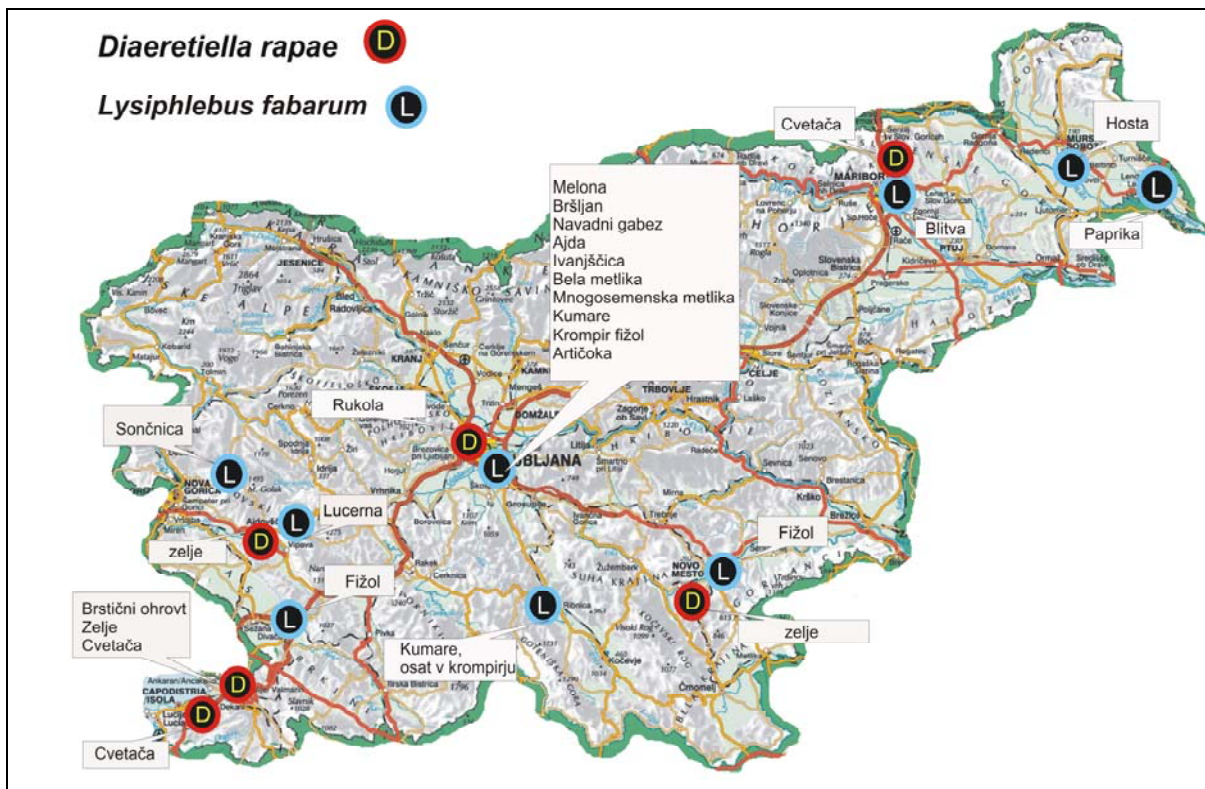
Figure 1 and 2: Host plants of parasitoid *Diaeretiella rapae* from Brassicaceae family and *Diaeretiella rapae* female wasp (photo: K. Kos)

Parazitoid *Diaeretiella rapae* je predvsem pomemben pri zatiranju mokaste kapusove uši. V Sloveniji smo ga našli na petih gostiteljskih rastlinah iz družine križnic, in sicer na rukoli, zelju, cvetači, brokoliju in na brstičnem ohrovtu (slika 1).



Sliki 3 in 4: Gostiteljske rastline parazitoida *Lysiphlebus fabarum* iz 9 botaničnih družin in samica parazitoida vrste *Lysiphlebus fabarum* (slika: K. Kos).

Figure 3 and 4: Host plants of parasitoid *Lysiphlebus fabarum* from 9 different families and *Lysiphlebus fabarum* female wasp (photo: K. Kos)



Slika 5: Kraji, kjer smo v letih 2006 in 2008 našli parazitoida *Lysiphlebus fabarum* in *Diaeretiella rapae* ter njune pripadajoče gostiteljske rastline v Sloveniji (slika: K. Kos).

Figure 5: Locations in Slovenia where we found parasitoids *Lysiphlebus fabarum* and *Diaeretiella rapae* on host plants in 2006 and 2008.

Vrsto *Lysiphlebus fabarum* najdemo na številnih vrstah gostiteljskih rastlin. Pri nas smo jo doslej našli na 17 različnih rastlinskih vrstah, katere uvrščamo v 9 različnih družin (slika 3). Parazitoid se je pojavljal na okrasnih rastlinah (hosta, okrasni bršljan, sončnica), poljščinah (ajda, lucerna, krompir), vrtninah (fižol, kumare, melone, paprika, blitva, artičoka) in na številnih plevelih, med gojenimi rastlinami ali ob robovih njiv (navadni gabez, bela in mnogosemenska metlika, njivski osat, ivanjščica).

Tabela 2: Območje nabiranja, gostiteljske rastline in število parazitoidov *Lysiphlebus fabarum* in *Diaeretiella rapae*.Table 2: Collection area, host plants and number of parasitoids *Lysiphlebus fabarum* and *Diaeretiella rapae*.

Parazitoid	Gostiteljska rastlina	Območje nabiranja	Število samic	Število samcev	Skupaj
<i>Lysiphlebus fabarum</i>	<i>Symphytum officinale</i>	Ljubljana	1		1
	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Ljubljana	12		12
	<i>Leucanthemum ircutianum</i>	Ljubljana	11	2	13
	<i>Chenopodium album</i>	Ljubljana	2		2
	<i>Cucumis sativus</i>	Ljubljana	1		1
	<i>Solanum tuberosum</i>	Ljubljana	8	1	9
	<i>Chenopodium polyspermum</i>	Ljubljana	38		38
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Ljubljana	29		29
	<i>Cynara scolymus</i>	Ljubljana	2		2
	<i>Cucumis melo</i>	Ljubljana	275		275
	<i>Hedera helix</i>	Ljubljana	6		6
	<i>Helianthus annuus</i>	Slovenska Istra	196		196
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Goriška	11		11
	<i>Medicago sativa</i>	Goriška	33	25	58
	<i>Hosta</i> sp.	Prekmurje	47		47
	<i>Capsicum annuum</i>	Prekmurje	4		4
	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>flavescens</i>	Štajerska	2		2
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Dolenjska	1		1
	<i>Capsicum annuum</i>	Dolenjska	14		14
<i>Cucumis sativus</i>	Dolenjska	1	1	2	
<i>Cirsium arvense</i>	Dolenjska	1		1	
<i>Diaeretiella rapae</i>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	Dolenjska	1		1
	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> subvar. <i>cauliflora</i>	Štajerska	6	2	8
	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	Goriška	15	7	22
	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> subvar. <i>cauliflora</i>	Slovenska Istra	475	141	616
	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	Slovenska Istra	23	8	31
	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>	Slovenska Istra	68	29	97
	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>	Ljubljana		2	2
	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>	Ljubljana	6	7	13
<i>Eruca sativa</i>	Ljubljana	5	6	11	

4 SKLEPI

V letih 2006 in 2008 smo v Sloveniji našli in identificirali 30 vrst parazitoidov listnih uši iz 8 rodov družine Braconidae: *Aphidius*, *Binodoxys*, *Diaeretiella*, *Ephedrus*, *Lysiphlebus*, *Lipolexis*, *Monoctonus* in *Praon*.

Parazitoide listnih uši lahko najdemo v različnih kmetijskih ekosistemih, saj imajo lahko veliko različnih gostiteljskih rastlin, ki pripadajo različnim botaničnim družinam. Največji razpon gostiteljskih rastlin je imela vrsta *Lysiphlebus fabarum*, ki smo jo našli na 17 različnih rastlinah, katere uvrščamo v 9 različnih družin: metuljnice, nebinovke, dresnovke, bučnice, razhudnikovke, metlikovke, srhkolistovke, bršljanovke in Hostaceae. Vrsto *Diaeretiella rapae* smo našli na petih različnih rastlinskih vrstah iz družine križnic. Najštevilčnejši vrsti v naši raziskavi sta bili *Diaeretiella rapae* in *Lysiphlebus fabarum*. Parazitoida *Lysiphlebus fabarum* in *Diaeretiella rapae* smo našli na skoraj vseh območjih Slovenije, kjer smo vzorčili.

V omenjenih letih smo našli 724 osebkov vrste *Lysiphlebus fabarum*. Le 29 osebkov je bilo samcev, kar predstavlja le 4 % vseh parazitoidov vrste *L. fabarum*.

Našli smo tudi 801 osebek vrste *Diaeretiella rapae*, kjer je bil odstotek samcev nekoliko višji in je predstavljal 24 % vseh nabranih parazitoidov te vrste.

V Sloveniji so listne uši pomembni škodljivci gojenih rastlin, saj s svojo neposredno in posredno povzročeno škodo pomembno vplivajo na kakovost pridelkov. Zato bi lahko v okviru integriranega varstva rastlin pred mokasto kapusovo ušjo uporabljali parazitoidno osico *Diaeretiella rapae*, vrsti *Lysiphlebus fabarum* pa bi tako kot tudi ostalim koristnim vrstam morali zagotoviti ustrezen trajni habitat, kjer bi lahko poiskale alternativne gostitelje, hrano in zavetje. Vnos parazitoidov v okolje je enostaven in učinkovito zmanjša populacijo listnih uši, vendar pa je pomemben čas vnosa, da ima parazitoid dovolj gostiteljev in ustrezen habitat, kjer lahko preživi (rastlinsko pestri robovi njiv ali namensko zaraščanje delov njive z veliko rastlinsko diverzitetjo).

5 ZAHVALA

Rezultati pričujoče raziskave so nastali v okviru projekta CRP V4-0524, ki ga financirata Javna agencija za raziskovalno dejavnost RS in Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS ter Programa strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin za leto 2008, ki ga je financiralo Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS – Fitosanitarna uprava RS.

6 LITERATURA

- Brajković M., Tomanović Ž., 2005. Entomološki praktikum. Metode sakupljanja, preparovanja insekata. Beograd, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu: 106 str.
- Eilenberg J., Hajek A. in Lomer C. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol*, 46: 387-400
- Elliott, N.C., French, B.W., Reed, D.K., Burd, J.D., Kindler, S.D. 1994. Host species effects on parasitization by a Syrian population of *Diaeretiella rapae* McIntosh (Hymenoptera: Aphidiidae). *Can. Entomol.* 126, 1515-1517
- Enemigos naturales. 1997. Agroinfomación. http://www.infoagro.com/agricultura_ecologica/enemigosnaturales.asp (4.5.2007).
- Godfray H.C.J. (1994): Parasitoids: behavioural and evolutionary ecology. Princeton, New Jersey, Princeton University Press: 473 p.
- Kos K., 2007. Prave listne uši (Aphididae) in njihovi parazitoidi v vrtnarskem ekosistemu. Dipl. naloga, UL, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo: 69p.
- Kos K., Tomanović Ž., Petrović-Obradović O., Laznik Ž., Vidrih M., Trdan S. 2008. Aphids (Aphididae) and their parasitoids in selected vegetable ecosystems in Slovenia. *Acta agric. Slov.*, 91 (1): 15-22.
- Meyhöfer R. in Klug T. 2002. Intraguild predation on the aphid parasitoid *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Aphidiidae): mortality risks and behavioral decisions made under the threats of predation. *Biological Control*, 25 (3), 239-248
- Milevoj, L. 1997. Biotično varstvo rastlin/biotično zatiranje škodljivih organizmov (splošno), BF-agronomija. www.fito-info.bf.uni-lj.si/Fito2/ (2.5.2007).
- Pike, K.S., Starý, P., Miller, T., Allison, D., Boydston, L. & Graf, G. 1999. Host range and habitats of the aphid-parasitoid *Diaeretiella rapae* (McIntosh) (Hym.: Aphidiidae) in Washington State. *Environ. Entomol.*, 28: 61-71.
- Raymond B., Darby A.C. and Douglas A.E. 2000. Intraguild predators and the spatial distribution of a parasitoid. *Oecologia* 124, 367-372.
- Starý P. 1970. Biology of aphid parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae) with respect to integrated control. *Series Entomologica*, 6: 1-643.
- Völkl W. in Stechmann D.H. 1998. Parasitism of the black aphid (*Aphis fabae*) by *Lysiphlebus fabarum* (Hym., Aphidiidae): the influence of host plant and habitat. *J. Appl. Entomol.* 122, 201-206.
- Zhang WQ, Hassan SA 2003. Use of the parasitoid *Diaeretiella rapae* (McIntosh) to control the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* (L.). *Journal of Applied Entomology* 127: 522-526.

FITOSANITARNI POMEN KOLOBARJA NA POLJEDELSKO-ŽIVINOREJSKIH KMETIJAH

Darja KOCJAN AČKO¹, Igor ŠANTAVEC²

Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko,
poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

Pravilno vrstenje posevkov ob hkratnem ustreznem deležu v kolobarju ima velik, vendar v sodobnem času premalo upoštevan fitosanitarni pomen. Izbor poljščin in vrtnin je v Sloveniji zelo ozek, vendar se ta po letu 2000 povečuje z uvajanjem integrirane pridelave, ekološkega kmetovanja in nekaterih ukrepov slovenskega kmetijskega okoljskega programa. Tudi pojav koruznega hrošča (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) leta 2003, ki onemogoča pridelavo koruze v monokulturi, je vzrok, da se na kmetijah znova odločajo za setev več poljščin (strna žita, detelje, deteljno-travne mešanice, zrnate stročnice in oljnice). Hkrati pa se kolobar tudi oži, zaradi ukinitve pridelave sladkorne pese in zmanjšane pridelave krompirja. Rezultati analize vrstenja poljščin na poljedelsko-živinorejskih kmetijah po Sloveniji kažejo, da so monokulturo koruze razbremenila druga žita, zlasti ječmen, manjkajo pa stročnice in dosevki. Na kmetijah, kjer so že pred letom 2004 vrstili koruzo na dve leti, se je s pristopom k integrirani pridelavi povečala ne le pestrost glavnih posevkov, ampak tudi dosevkov. Kljub temu pa analiza teh kolobarjev s fitosanitarnega stališča kaže, da so nekateri še vedno preozki. Predlagali smo kolobarje, sestavljene iz glavnih posevkov in dosevkov, ki upoštevajo fitosanitarno primernost, proizvodno usmeritev kmetij, tehnično opremljenost, navade, znanje in želje slovenskih kmetov. Pri uporabi predlaganih kolobarjev lahko v prihodnje pričakujemo vse bolj pozitiven vpliv kolobarja na pridelek in na zdravstveno stanje posevkov ob hkratnem zmanjšanju uporabe fitofarmaceutskih sredstev.

Ključne besede: fitosanitarni pomen kolobarja, integrirana pridelava poljščin, konvencionalna pridelava poljščin, koruza, poljedelsko-živinorejske kmetije

ABSTRACT

PHYTOSANITARY IMPORTANCE OF CROP ROTATION ON ARABLE AND LIVESTOCK FARMS

Proper crop rotation with an appropriate portion of crops in rotation has a large but in modern time not enough considered phytosanitary importance. Choice of field crops and vegetables is very narrow in Slovenia, but after 2000 it started to increase due to integrated crop production, organic farming and some measures of Slovenian Agri-Environmental Programme. Also the appearance of western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) in 2003, which threatens maize production in monoculture, is the reason for farmers to decide for sowing more field crops (winter cereals, clovers, clover-grass mixtures, grain legumes and oil plants). At the same time crop rotation narrows also because of ending of sugar beet production and reduced production of potato. Results of field crop rotation analysis on arable and livestock farms in Slovenia show that maize production in monoculture was substituted by other cereals, particularly barley but with legumes and

¹ viš. pred., dr., Jamnikarjeva 101, SL-1111 Ljubljana, e-pošta: darja.kocjan@bf.uni-lj.si

² asist., dr., prav tam, e-pošta: igor.santavec@bf.uni-lj.si

supplementary crops still missing in it. Farms, which started with a two year rotation of maize already before 2004, an increase of main crops diversity and also supplementary crops was noted after the accession to integrated production. In spite of this fact the analysis shows that some rotations are still too narrow from the aspect of phytosanitary importance. We recommended rotations composed of main crops and supplementary crops and which took into consideration phytosanitary importance, farm's production orientation, technical level of equipment of farms, habits, knowledge and request of Slovenian farmers. In the future when recommended rotations are used we can expect increasingly positive influence of rotation on the yield and health status of crops and at the same time the reduction of use of plant protection products.

Key words: fitosanitary importance of rotation, conventional crop production, integrated crop production, maize, arable and livestock farms

1 UVOD

Približno 40-odstoten delež koruze v setveni strukturi poljščin nas že več kot desetletje uvršča na prvo mesto med vsemi evropskimi državami (Tajnšek in Šantavec, 1998; Statistični letopis in Statistične informacije, 2008). Tolikšna razširjenost koruze preprečuje izvajanje dobre kmetijske prakse, pri kateri ima kolobar velik fitosanitarni pomen. Pri setvi koruze v monokulturi in v ozkem kolobarju (koruza-pšenica/ječmen) je ugotovljen večji pojav specifičnih povzročiteljev bolezni (fuzarioze, koruzna bulava snet) in škodljivcev (štrune, koruzna vešča), posevki pa so bolj zapleveljeni (Maček, 1991; Tajnšek in sod., 1991; Čergan in sod., 2008).

Z uvajanjem integrirane pridelave, ekološkega kmetovanja in nekaterih ukrepov slovenskega kmetijskega okoljskega programa se izbor poljščin povečuje. Ponovno, vendar na majhnih zemljiščih beležimo pridelavo pire, tritikale, sirka, prosa, ajde, buč, sončnic, krmnega graha, soje in krmnih ter prezimnih dosevkov. V tem času je bila ukinjena pridelava sladkorne pese, nazaj pa smo uvedli oljno ogrščico; iz leta v leto je manj krompirišč (Statistični letopis in Statistične informacije, 2008). Tudi pojav koruznega hrošča (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) leta 2003 (Čergan in sod., 2008; Modic in sod., 2008) je vzrok, da se na kmetijah znova odločajo za setev več poljščin, kar pa še ne pomeni, da jih v kolobarju vrstijo v pravilnem zaporedju in v ustreznih deležih.

1.1 Biotično uravnotežen kolobar

Urejeno kolobarjenje z menjavanjem žitnih posevkov z nežitnimi se je oblikovalo v sredini 18. stoletja v Veliki Britaniji. Sestava vrstilnega kolobarja se je spreminjala glede na potrebe po hrani in krmi v odvisnosti od časovnih in prostorskih značilnosti. Rezultati znanstvenih poskusov in izkušnje kmetov kažejo, da je biotično uravnotežena sestava vrstilnega kolobarja dosežena pri 40- do 50-odstotni pokritosti zemljišč z žiti, medtem, ko okopavine in metuljnice zavzemajo po 20 do 30 % zemljišč (Sadar, 1961; Spanring, 1959; Butorac, 1999; Kocjan Ačko in sod., 2005 in 2006). Metuljnice so pomembne pri vzdrževanju rodovitnosti tal (simbioza z bakterijami iz rodu *Rhizobium*), njihov fitosanitarni pomen pa se kaže v kolobarju pri zmanjšanju zapleveljenosti, prerazmnožitvi povzročiteljev bolezni in škodljivcev žit in okopavin.

2 MATERIAL IN METODE DELA

Vrstenje poljščin smo preučili na petih konvencionalnih in na petih integriranih kmetijah na severovzhodu in na zahodu države v obdobju 2000-2009. Med petimi kolobarji na posamezni

kmetiji smo izbrali najbolj pogost kolobar in analizirali njegovo sestavo pred pojavom koruznega hrošča leta 2003 in po njem.

Pregledali smo prepovedi, zahtevane ukrepe in priporočila s področja vključevanja koroze v kolobar. Vsi pridelovalci so dolžni upoštevati določila iz pravilnika o fitosanitarnih ukrepih za preprečevanje širjenja koruznega hrošča (Ur. L. RS, št. 21/2004 in 106/2006) ter navodila opazovalno napovedne službe o gibanju in pojavu hroščev, ki so na spletu (<http://www.furs.si/Diabrotica/Index.asp>) in se sproti dopolnjujejo. Pridelovalci, ki so se odločili za integrirano pridelavo morajo ravnati v skladu s prepovedmi, zahtevami in priporočili, ki so zapisane v Tehnoloških navodilih za integrirano pridelavo poljščin v tekočem letu pri upoštevanju sprotih sprememb. Med pomembnimi ukrepi je petleten kolobar, v katerem se lahko seje koroza na isto njivo dvakrat v treh letih, vendar nikoli dvakrat zapored.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Zgledi kolobarjev na konvencionalnih poljedelsko-živinorejskih kmetijah v severovzhodni Sloveniji kažejo, da so monokulturo koroze po letu 2003 razbremenila druga žita. Izrazito dvopolje koroza pšenica/ječmen se pojavlja v dveh kolobarjih. Vzrok za večjo pogostost ječmena je po letih stabilen pridelek, večja gospodarnost pridelave ječmena v primerjavi s koroza, navsezadnje pa odlična krmna kakovost za prehrano domačih živali, zlasti prašičev. V celoti okopavinski in za pridelavo pese škodljiv kolobar je bil koroza-sladkorna pesa; z vključitvijo ječmena na mesto koroze se je podaljšal v triletni kolobar, ozimna oljna ogrščica v tem kolobarju pa je leta 2008 nadomestila na ravni države ukinjeno pridelavo sladkorne pese. Nasprotno pa se je okopavinski kolobar (pšenica-pesa-koroza) po letu 2003 zožil na ponavljajoče se dvopolje koroza pšenica/ječmen. V štirih od petih kolobarjev manjkajo metuljnice v čistem posevku; izjema je kolobar na kmetiji, kjer so se v letu 2004 odločili za setev TDM, ki je ostala na njivi dve leti, po njej pa se izmenjuje koroza s pšenico. Na nobeni kmetiji niso sejali dosevkov, zato so bila strnišča zapleveljena in kot takšna razmnoževalni poligon plevelov.

Na integriranih poljedelsko-živinorejskih kmetijah so že pred letom 2004 in pred pristopom kmetije v SKOP leta 2005 vsako drugo ali tretje leto uvrščali žita v sicer koruzni kolobar, kolobarja s sladkorno peso pa sta bila triletna. S pristopom k integrirani pridelavi se je v treh kolobarjih pojavil sirek kot tretja poljščina, biotska raznovrstnost žitnih kolobarjev pa se je povečala z dosevki (mnogocvetna ljujka, inkarnatka, krmna ogrščica, ozimna rž, facelija). Po ukinjeni pridelavi pese se v dveh kolobarjih izmenjuje koroza s pšenico ali z ječmenom, vsako ali vsako drugo leto pa so v kolobarju dosevki iz drugih botaničnih družin. Setev inkarnatke kot dosevka je bila ugotovljena v treh kolobarjih.

Tudi na Goriškem so se leta 2004 morali odreči zaporedni setvi koroze. Monokulturo koroze sta leta 2004 in 2005 razbremenila pšenica ali ječmen, na dveh kmetijah pa so se odločili za lucerno, ki je bila na njivi dve oziroma tri leta. Tudi na Goriškem so dali prednost ječmenu pred pšenico. Trije kolobarji so v celoti brez metuljnic, v vseh kolobarjih pa manjkajo dosevki, vsaj po pravilu strnih žit.

Kolobar na integriranih poljedelsko-živinorejskih kmetijah na Goriškem (2005-2009) izhaja iz monokulture koroze in vrstenja koroze s pšenico. Najbolj fitosanitarno škodljiv je bil en primer vrstenja ječmena pred pšenico. S pristopom k integrirani pridelavi so na vseh petih kmetijah v kolobar vključili tretjo poljščino (jari oves, črna detelja, krmni sirek, sončnica za silažo), biotsko raznovrstnost kolobarja pa so dopolnili dosevki.

3.1 Predlogi fitosanitarno ustreznih kolobarjev

V primerjavi s sedanjimi so za konvencionalne kmetije pri istem številu domačih živali in načinu reje biotično ustrežnejši štiripoljni vrstilni kolobarji (preglednica 1). Tudi za kmetije v

integrirani pridelavi smo s pomočjo pretekle prakse doma in v tujini sestavili petletne kolobarje (preglednica 2), ki po biotski raznovrstnosti presegajo sedanje kolobarje.

Preglednica 1: Predlagani vrstilni kolobarji za konvencionalne poljedelsko-živinorejske kmetije

Štiripoljni vrstilni kolobar	Poljina			
	1.	2.	3.	4.
L-S-L-S (klasičen norfolški)	koruza za zrnje/ silazo	jari ječmen + (podsevek: črna detelja)	črna detelja → oz. pšenica	oz. pšenica → (dosevek: oljna redkev)
L-S-L-S	(prezimni dosevek: mnogocv. ljuljka) → koruza za zrnje	jari oves → (dosevek: oljna redkev)	krmni bob → oz. ječmen	oz. ječmen → (prezimni dosevek: mnogocv. ljuljka)
L-S-L-S	buča → oz. pšenica	oz. pšenica → (dosevek: krmna ogrščica)	krmni grah → oz. tritikala	oz. tritikala → (dosevek: facelija)
L-S-L-S	koruza za zrnje/ silazo	jari oves → (prezimni dosevek: mnogocvetna ljuljka)	(prezimni dosevek: mnogocvetna ljuljka) → soja za silazo → ozimna pšenica	oz. pšenica → (dosevek: oljna redkev)
L-S-L-S	koruza za zrnje	jari oves → (prezimni dosevek: landsberška mešanica)	(prezimni dosevek: land. mešanica) → silazna koruza → oz. pšenica	oz. pšenica → (dosevek: krmna ogrščica)
L-L-S-S	krompir → (prezimni dosevek: ržiga)	(prezimni dosevek: ržiga) → koruza za zrnje/silazo	jari oves → oz. pšenica	oz. pšenica → (dosevek: repa)

Legenda: L - listanka, S –strnina

Preglednica 2: Predlagani petletni kolobarji za integrirane poljedelsko-živinorejske kmetije

Vrstilni kolobar	Leto				
	1.	2.	3.	4.	5.
Oves-det- L-S-S (stari slovenski)	jari oves + (podsevek: DTM)	DTM	DTM → koruza za silazo → oz. pšenica	oz. pšenica → oz. ječmen	oz. ječmen → koruza za silazo
Oves-det- L-S-L (stari slovenski)	jari oves + (podsevek: DTM)	DTM	buče → oz. pšenica	oz. pšenica → (dosevek:krmna ogrščica)	koruza (za zrnje/silazo)
L-S-S-L-S (renski)	koruza za zrnje	jari oves → oz. pšenica	oz. pšenica → landsberška mešanica	landsberška mešanica → koruza za silazo + oz. ječmen	oz. ječmen + (dosevek: sudanska trava)
L-S-S-L-S (renski)	grah → oz. pšenica	oz. pšenica → oz. ječmen	oz. ječmen → (dosevek: bela gorjušica)	koruza za zrnje/silazo	jari oves → facelija
L-S-S-L-S (renski)	bob → oz. pšenica	oz. pšenica → tritikala	oz. tritikala → (dosevek: bela gorjušica)	koruza za zrnje/silazo	jari oves → facelija
L-S-S-L-S (renski)	oz. oljna ogrščica → (dosevek: silazna koruza)	jari oves → oz. pšenica	oz. pšenica → landsberška mešanica	landsberška mešanica → koruza za silazo → oz. ječmen	oz. ječmen → oz. oljna ogrščica

Legenda: L - listanka, S –strnina

Zavedamo se, da fitosanitarno ustrenejši kolobarji lahko kratkoročno ogrozijo intenzivno rejo živine v hlevih, za dolgoročno načrtovanje preskrbe s krmo, pa bi bilo treba pridobiti več krme iz naravnih travnikov in pašnikov in izkoristiti pašo od zgodnje spomladi do pozne jeseni. Vpliv večje biotske raznovrstnosti v poljedelstvu torej omejuje intenzivnost reje živali, spremembam v načinu reje pa se nekateri rejci in strokovnjaki močno upirajo.

4 SKLEPI

Na temelju analize kolobarjev na intenzivnih poljedelsko-živinorejskih kmetijah smo prišli do naslednjih ugotovitev:

- Pojav koruznega hrošča je povzročil kakovostne spremembe v sestavi kolobarja na vseh preučevanih kmetijah. Koruza ni več v monokulturi ampak v kolobarju s pšenico ali z ječmenom. Toda, tudi ta kolobar ni fitosanitarno ustrezen, saj je lahko zlasti pri zaporedju koruza za zrnje pšenica pričakovan večji pojav fuzarioz na pšenici in posredno onesnaženje hrane in krme z mikotoksini (Zemljič in sod., 2008). Fitosanitarno ustrenejše je vrstenje oves pšenica, ki je bilo pogosto v preteklosti (Sadar, 1961).
- V integrirani pridelavi je tretja poljščina v petletnem kolobarju v glavnem žito. Biotska pestrost, ki je temelj zdravih posevkov, je tudi na integriranih kmetijah odvisna od dozevkov, njihove izbire in pravilne uvrstitve v kolobar.
- Medtem, ko so na preučevanih konvencionalnih poljedelsko-živinorejskih kmetijah v severovzhodni Sloveniji brez metuljnic v kolobarju, so na nekaterih preučevanih Goriških kmetijah uvrstili v kolobar lucerno, kar bi bilo za posevke v kolobarju biotično ugodno, le pri kolobarju, v katerem bi bil presledek pri ponovni setvi lucerne enak številu let njenega koriščenja.
- Brez metuljnic ni mogoče sestaviti kolobarjev. Problematika uvrščanja metuljnic v kolobar je v njihovi nestrpljivosti pri setvi na isto njivo, zato se je treba ozreti po mešanica metuljnic s travami, ki so bile v preteklosti pomemben člen kolobarjev poljedelsko-živinorejskih kmetij. V primerjavi z inkarnatko, ki je izrazito nestrpljiva, je fitosanitarno bolj ugodna njena setev v landsberški mešanici. Takšni so tudi mešani posevki žit s stročnicami (ržiga, ovsiga).
- Uvajanje metuljnic (voluminoznih in zrnatih) je možnost za pridelek beljakovin iz domačih njiv, kar pomeni tudi manjši izdatek za nakup beljakovinskih krmil.
- V preučeni kolobarjih po ukinitvi pese, ni več pravih okopavin. Čeprav sta pesa in krompir velika porabnika humusa, sta kot okopavini v kolobarju ugodilki.
- Ugotovili pa smo tudi, da kmetje zadovoljujejo le minimalne zakonske predpise, ki jih vsebujejo Uredba o predpisanih zahtevah ravnanja ter dobrih kmetijskih pogojih pri kmetovanju, Pravilnik o integrirani pridelavi poljščin ter Pravilnik o fitosanitarnih ukrepih za preprečevanje širjenja koruznega hrošča.

5 LITERATURA

- Butorac, A. 1999. Sustavi biljne proizvodnje. V: Opća agronomija, Školska knjiga, Zagreb: 537-574.
- Čergan, Z., Jejčič, V., Knapič, M., Modic, Š., Moljk, B., Poje, T., Simončič, A., Sušin, J., Urek, G., Verbič, J., Vrščaj, B., Žerjav, M. 2008. Koruza. Založba Kmečki glas, Ljubljana: 314 str.
- Diepenbrock, W., Ellmer, F., Leon, J. 2005. Ackerbau, Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, 366 str. Bodennutzungssysteme: 31-87.
- Kocjan Ačko, D., Tolar, Š., Šantavec, I. 2005. Stročnice v kolobarju slovenskih ekoloških kmetij. Acta agriculturae slovenica, 85 - 1: 125-134.
- Kocjan Ačko, D., Lipovec, N. 2006. Kolobar kot temeljni ukrep omejevanja škode zaradi koruznega hrošča (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte). Novi izzivi v poljedelstvu 2006, Zbornik simpozija, Slovensko agronomsko društvo, Rogaška Slatina: 123-129.
- Maček, J. 1991. Bolezni poljščin. Knjižica za pospeševanje kmetijstva. ČZP Kmečki glas, Ljubljana: 267 str.

- Modic, Š. Knapič, M. Urek, G. 2008. Širjenje koruznega hrošča *Diabrotica v. virgifera* v Sloveniji v obdobju 2003-2007. *Acta agriculturae Slovenica*. 91-1: 259-270.
- Pravilnik fitosanitarnih ukrepov za preprečevanje širjenja koruznega hrošča. Ur. l. RS, št. 21/2004 in št. 106/2006.
- Sadar, V. 1961. Poljski kolobar in kolobarjenje. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za agronomijo, gozdarstvo in veterinarstvo, 104 s.
- Spanring, J. 1959. Pregled poljščin in predlog nekaterih kolobarjev za Slovenijo. Kmetijski inštitut Slovenije: 24 str.
- Statistični letopis Republike Slovenije 2007. Ljubljana, Statistični urad RS: 480 str.
- Tehnološka navodila za integrirano pridelavo poljščin. 2008. MKGP: 43-49.
- Tajnšek, A., Šantavec, I. 1998. Možnosti za sonaravni poljski kolobar v Sloveniji v primerjavi z državami EU. V: Kmetijstvo in okolje, Bled, 12.- 13. 3. 1998: 223-230.
- Tajnšek, T., Milevoj, L., Čergan, Z., Osvald, J., 1991. Koruza. Ljubljana, Kmečki glas: 180 str.
- Zemljič, A., Rutar, R., Žerjav, M. Verbič, J. 2008. Vpliv sorte, gnojenja z dušikom in razkuževanja semena na okuženost zrnja pšenice s *Fusarium* sp. in onesnaženost z mikotoksini. Novi izzivi v poljedelstvu 2008. Zbornik simpozija, Slovensko agronomsko društvo, Rogaška Slatina: 257-262.

MOŽNOSTI ZATIRANJA GLIVE *Pseudoperonospora cubensis* V POSEVKIH OLJNIH BUČ V SLOVENIJI

Mario LEŠNIK¹, Manfred JAKOP², Franc BAVEC³

^{1,2,3}Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Maribor

IZVLEČEK

V letih 2006 in 2007 smo na območju vzhodne Slovenije prvič odkrili večje število posevkov oljnih buč (*Cucurbita pepo* L.), ki so bile močno okužene z glivo *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & M.A. Curtis) Rostovzev. Zaradi tega smo izvedli dva poljska poskusa v katerih smo preverili učinkovitost nekaterih fungicidov za zatiranje te glive. Fungicide na podlagi AL-fosetila (Aliette Flash), metalaksila (Ridomil Gold MZ), azoksistrobina (Quadris) in mandipropamida (Revus) smo nanegli z nahrbtno škropilnico dvakrat pri porabi vode 250 l/ha in polnih registriranih odmerkih. Oceno učinkovitosti (% Abbott) smo opravili na podlagi vizualnega določanja deleža (%) površine listja napadenega od glive. Dosegli smo naslednje učinkovitosti: Aliette (60-80), Ridomil (73-90), Quadris (70-85) in Revus (68-85). Preučevani fungicidi so dovolj učinkoviti za zatiranje novega različka glive *P. cubensis*, če jih naneseemo ob ustreznem terminu. Potrebno je prilagoditi sistem setve buč (puščanje voznih stez), saj je škropljenja potrebno opraviti tudi v obdobju, ko vreže prerastejo medvrstni prostor.

Ključne besede: oljne buče, *Pseudoperonospora cubensis*, kemično zatiranje, fungicidi

ABSTRACT

OPTIONS FOR OIL PUMPKIN DOWNY MILDEY (*Pseudoperonospora cubensis*) CONTROL IN SLOVENIA

During the growing seasons 2006 and 2007, in the eastern part of Slovenia many oil pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) crops were for the first time severely infected by fungus *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & M.A. Curtis) Rostovzev. Therefore two field trials were conducted to evaluate the efficacy of fungicides for control of pumpkin downy mildew. Full labelled doses of fungicides based on AL-phosethyl (Aliette Flash), metalaxyl (Ridomil Gold MZ), azoxystrobin (Quadris) and mandipropamide (Revus) were applied twice per season with a backpack sprayer, using 250 l of water per hectare. The severity of downy mildew (percent total area of leaves affected) was visually evaluated and fungicide efficacy (% Abbott) was calculated. The achieved efficacy rates of fungicides were: Aliette (60-80), Ridomil (73-90), Quadris (70-85) in Revus (68-85). Tested fungicides were efficient enough for control of new strains of pumpkin downy mildew if they were applied during the appropriate time period. The system of pumpkin seeding must be adapted (considering driving paths - tramlines) because fungicide application must be carried out also after the period when plants fully overgrow the inter-row spaces.

Key words: oil pumpkin, *Pseudoperonospora cubensis*, chemical control, fungicides

¹ izr. prof., dr. agr. znan., Pivola 10, SI-2311 Hoče

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ red. prof., dr. agr. znan., prav tam

1 UVOD

Še pred nekaj leti pridelovalci na območju Slovenije pri posevkih oljnih buč (*Cucurbita pepo* L.) niso opazili razvoja glive povzročiteljice kumarne plesni. V letih 2006 in 2007 smo prvič opazili močno napadene posevke oljnih buč, ki jih je napadla gliva *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & M.A. Curtis) Rostovzev, sicer povsod razširjena in znana kot povzročiteljica plesni na kumarah. Gliva ima v različnih geografskih regijah sveta večje število fizioloških ras (Anonimno - EPPO, 2004; Colucci, 2008), ki se različno uspešno razvijajo na različnih vrstah iz družine Cucurbitaceae. V našem okolju nimamo raziskovalnih podatkov o pojavnosti različnih fizioloških ras te glive. Pri naših sosedih (Avstrija, Madžarska) so večje pojavljanje novih ras, ki lahko okužujejo oljne buče, evidentirali že leta 2003. Morda so se v nekaj letih te, za naše ozemlje nove rase glive, razširile iz sosednjih pridelovalnih območij k nam, ali pa so rezultat naravne selekcije znotraj naših pridelovalnih območij.

Pridelovalci se morajo soočiti z novo boleznijo oljnih buč, ki jo bo zelo verjetno potrebno redno zatirati s fungicidi. Osnovna težava, poleg morebitnega premajhnega števila registriranih pripravkov, je tudi prilagoditev sistema setve buč, ker vožnja po posevku povzroča velike poškodbe vrež in dodatne izgube pridelka. Zato, da bi preverili možnosti za kemično zatiranje glive povzročiteljice plesni oljnih buč smo izvedli dva poljska poskusa.

2 MATERIAL IN METODE DELA

Izvedli smo dva poljska poskusa zasnovana v naključnih blokih v štirih ponovitvah. Oba sta bila izvedena na njivah v okolici naselja Rakičan v Prekmurju. Prvi je bil izveden v bližini bencinskega servisa (poskus črpalka) in drugi na robu letališča (poskus letališče). Zasnova obeh poskusov je bila enaka. Edina razlika je bila le v terminih aplikacije fungicidov. Buče štirih sort (Gleisdorfer, SLO golica, Olinka in Domača buča z lupino) smo posejali na parcelice velikosti 16 m² po sistemu naključne porazdelitve v štirih naključnih blokih. Posamezna rastlina je imela 2 m² življenjskega prostora. Buče smo pridelovali po navadni pridelovalni tehniki. Fungicide za zatiranje bučne plesni smo nanašali v dveh terminih z nahrbtno škropilnico Fox gnano od akumulatorja ob porabi vode 250 l/ha. Prikaz uporabljenih pripravkov in terminov aplikacije je viden v preglednici 1. Oceno stopnje okužbe od bolezni na listju smo izvedli z vizualnim ocenjevanjem deleža površine listov, napadene od glive. Na vsaki parcelici smo pri vsakem ocenjevanju pregledali 40 do 60 naključno izbranih listov. Učinkovitost fungicidov smo izračunali po Abbott-ovi enačbi (%), ki temelji na razmerju med stopnjo okužbe na škropljenih in neškropljenih parcelicah (Püntener, 1981).

Preglednica 1: V poskusu uporabljeni pripravki, odmerki in termini aplikacije

Pripravek:	Aktivna snov:	Odmerek:	Termin aplikacije:			
			L. črpalka	L. letališče		
Quadris	azoksistrobin 25 %	0,2 l/ha	9. 6.	26. 6.	11. 6.	10. 7.
Ridomil gold MZ pepite	metalaksil 4 % + mankozeb 64 %	2,8 kg/ha	9. 6.	26. 6.	11. 6.	10. 7.
Revus	mandipropamid 25 %	0,6 l/ha	9. 6.	26. 6.	11. 6.	10. 7.
Aliette flash	AI-fosetil 80 %	3,5 kg/ha	9. 6.	26. 6.	11. 6.	10. 7.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V preglednici 2 so prikazani podatki o stopnji okužbe na listju pri rastlinah buč, ki jih nismo poškropili s fungicidi. V letu 2008 je na območju, kjer smo izvajali poskus pogosto deževalo, temperature pa so nihale v okviru dolgoletnega povprečja. Prve okužbe smo opazili šele v zadnjih dneh junija. Največji razmah bolezni je bil v sredini julija. Kontrolne parcelice so bile

močno okužene. Poskusne parcelice so bile na njivi, kjer so prejšnje leto z manjšim zamikom tudi bile posejane buče. Morda je to nekoliko vplivalo na močan pojav bolezni. Konec julija je bilo listje buč močno prizadeto, nato pa so rastline v začetku avgusta oblikovale veliko število novih listov. Suše v letu 2008 ni bilo. Rastline je nekoliko prizadela zrna toča. Med sortami so se pojavile manjše razlike. Najbolj občutljivi sta bili Olinka in Domača buča. To je nekoliko vplivalo tudi na učinkovitost fungicidov, ki so bili pri bolj občutljivih sortah manj učinkoviti.

Preglednica 2: Podatki o stopnji okužbe glive na listju pri rastlinah različnih sort buč, kjer fungicidi niso bili uporabljeni

Sorta	Lokacija ČRPALKA		Lokacija LETALIŠČE	
	25. 7.	14. 8.	25. 7.	14. 8.
Termin ocenjevanja:	25. 7.	14. 8.	25. 7.	14. 8.
SLO golica	31,2 a	50,2 a	24,3 a	37,2 a
Olinka	36,5 ab	59,0 ab	28,3 ab	43,2 a
Gleisdorfer	39,7 b	53,4 b	28,1 ab	42,1 a
Domača	41,7 b	70,2 c	31,7 b	46,9 a

* Povprečja označena z enako črko znotraj enega termina ocenjevanja se ne razlikujejo značilno po Tukey HSD testu ($\alpha=0,05$).

V preglednici 3 so prikazani podatki o učinkovitosti fungicidov na lokaciji 1 (črpalka). Na tej lokaciji smo drugo aplikacijo fungicidov izvedli zgodaj, v obdobju, ko vreže buč navadno toliko zaprejo medvrstni prostor, da vožnja s traktorjem ni več mogoča. V povprečju smo najvišjo učinkovitost ugotovili pri pripravku ridomil (93,1 %), najnižjo pa pri pripravku aliette (53,6 %). Učinkovitost ob drugem ocenjevanju je bila nekaj nižja, kot ob prvem, kar kaže na to, da so bili rezidualni učinki fungicidov prekratki. Potrebno bi bilo nekaj poznejše škropljenje. Ta poskus kaže, da bi bilo smiselno uvesti vozne steze, da bi lahko izvedli poznejšo aplikacijo fungicidov.

Preglednica 3: Podatki o doseženi učinkovitosti fungicidov (% , Abbott) na lokaciji črpalka

Pripravek:	SLO golica		Olinka		Gleisdorfer		Domača	
	25. 7.	14. 8.	25. 7.	14. 8.	25. 7.	14. 8.	25. 7.	14. 8.
Quadris	80,8 a	69,7 a	82,7 b	67,1 b	82,1 a	70,5 bc	83,4 a	68,8 b
Ridomil gold	87,6 c	76,2 b	83,2 b	74,7 c	92,5 b	75,1c	93,1 b	74,3 b
Revus	81,7 ab	66,9 a	76,8 ab	63,9 b	87,8 ab	64,6 ab	88,7 ab	62,1 a
Aliette flash	82,6 ab	69,6 a	73,9 a	53,6 a	83,4 a	63,1 a	84,7 a	69,4 a

* Povprečja označena z enako črko znotraj enega termina ocenjevanja in znotraj posamezne sorte se ne razlikujejo značilno po Tukey HSD testu ($\alpha=0,05$).

V preglednici 4 so prikazani rezultati poskusa na drugi lokaciji (letališče). V tem poskusu so se buče razvijale nekoliko počasneje, ker so nalivi dežja zaskorjili in ohladili zemljo. Prve pege s trosi glive so bile vidne po 10. juliju. Listna gmota buč je bila ob prvem škropljenju dokaj majhna. Tudi v tem poskusu smo najvišje učinkovitosti ugotovili pri pripravku ridomil. Drugo škropljenje je bilo opravljeno bolj pozno, zato smo pričakovali nekaj manjšo razliko v stopnji učinkovitosti med prvim in drugim ocenjevanjem.

Pri varstvu proti kumarni plesni na bučah sta v naših razmerah možna dva pristopa. Prvi je navaden sistem setve buč in enkratno ali dvakratno škropljenje s fungicidi. Drugič škropimo, ko se je po posevku še možno peljati s traktorjem, ne glede na pojav glive (brez upoštevanja podatkov napovedovalne službe). Drugi pristop je, da ob setvi puščamo vozne steze in lahko škropljenja opravimo tudi bolj pozno, po napovedih napovedovalne službe, ki spremlja razvoj glive zaradi posredovanja podatkov pridelovalcem kumaric.

Preglednica 4: Podatki o doseženi učinkovitosti fungicidov (% , Abbott) na lokaciji letališče

Pripravek:	SLO golica		Olinka		Gleisdorfer		Domača	
Datum ocene:	25. 7.	14. 8.	25. 7.	14. 8.	25. 7.	14. 8.	25. 7.	14. 8.
Quadris	88,5 ab	87,3 b	89,7 a	87,9 a	90,1 ab	86,3 b	87,6 ab	84,5 b
Ridomil gold	92,7 b	86,2 a	91,8 a	86,1 a	93,4 b	90,5 b	92,8 b	84,9 b
Revus	86,4 ab	80,7 a	91,2 a	81,7 a	90,1 ab	87,9 b	85,7 a	82,9 b
Aliette flash	85,1 a	79,7 a	87,7 a	78,4 a	88,2 a	80,5 a	83,4 a	77,6 a

* Povprečja označena z enako črko znotraj enega termina ocenjevanja in znotraj posamezne sorte se ne razlikujejo značilno po Tukey HSD testu ($\alpha=0,05$).

Kakšna bo bodoča dinamika pojava te bolezni, je težko napovedati. Gliva si je že ustvarila začetni infekcijski potencial. Če bomo povečali njive posejane z bučami, bo potrebno izdelati natančne strategije setve, varstva in morebiti tudi izbora sort. Izbor pripravkov trenutno omogoča zadovoljivo zatiranje, ob bolj intenzivnem pojavljanju glive, pa bi bilo dobro registrirati še kakšen dodaten pripravek, da bi z njimi lahko kolobarili. Izkušnje iz bližnjih in daljnih okolij kažejo, da ima gliva sposobnost hitrega razvoja odpornosti (Theerthagiri *et al.*, 2008; Lebeda in Urban, 2006; Colucci, 2008). Razvoj odpornosti pri teh fizioloških rasah glive bi lahko bil hitrejši, kot pri rasah, ki se pojavljajo zgolj na kumarah, ker so njive posajene z bučami veliko večje, kot njive, kjer gojimo kumarice in jedilne bučke.

4 SKLEPI

Fungicidi na podlagi metalaksila, manidpropamida, azoksistrobina in Al-fosetila, ki smo jih preizkusili v poskusih, trenutno lahko nudijo dovolj učinkovito varstvo oljnih buč pred okužbami z glivo *P. cubensis*, povzročiteljico plesni buč. Glede na to, da je najpomembnejše obdobje infekcij v sredini poletja, je potrebno nanos fungicidov opraviti v začetku julija. Ker je tedaj pri navadnih sistemih setve buč celoten rastni prostor že prerasel z vrežami, je priporočljivo ob setvi puščati vozne steze.

5 LITERATURA

- Anonimno, 2004. Good plant protection practice – Outdoor cucurbits (EPPO Standard PP 2/32(1)), EPPO Bulletin, 34, 101-108.
- Colucci, S.J. 2008. Host Range, Fungicide Resistance and Management of *Pseudoperonospora cubensis*, causal agent of Cucurbit Downy Mildew. Master of Science Thesis, Graduate Faculty of North Carolina, Raleigh North Carolina USA, 156 s.
- Lebeda, A., Urban, J. 2004. Temporal changes in pathogenicity and fungicide resistance in *Pseudoperonospora cubensis* populations, ISHS Acta Horticulturae, 731: 327-336.
- Püntener, W. 1981. Manual für Feldversuche im Pflanzenschutz (Documenta Ciba-Geigy). Basel, Schweiz, 205 s.
- Theerthagiri, A., Angannan, C., Sasthamoorthy, K., Govindasamy, S., Thiruvengadam, R., Ramasamy, S. 2008. Effectiveness of Azoxystrobin in the control of *Erysiphe cichoracearum* and *Pseudoperonospora cubensis* on cucumber. Journal of Plant Protection Research, 48, 2: 147-160.

PREGLED DESETLETNIH POLJSKIH POSKUSOV Z RAZKUŽEVANJEM SEMENA ŽIT

Meta URBANČIČ ZEMLJIČ¹, Metka ŽERJAV²

^{1,2}Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

Razkuževanje semena žit je v Sloveniji že več desetletij rutinski ukrep, s katerim preprečujemo razvoj bolezni, ki se prenašajo s semenom. Nekatere, v preteklosti pomembne bolezni kot so npr. sneti, so postale redke in se na poljih pojavljajo le še izjemoma. Med leti 1993 in 2004 smo v mikroposkusih ugotavljali vpliv razkuževanja semena pšenice in ječmena na pojav bolezni, prezimitev posevkov in količino pridelanega zrnja. Pri pšenici je bila le v petih od enajstih poskusov prezimitev značilno boljša pri razkuženem semenu v primerjavi z nerazkuženim, večji pridelek pa je razkuženo seme dalo samo dvakrat. Pri ječmenu smo značilne razlike v prezimitvi zabeležili v dveh izmed osmih poskusov in v količini pridelka enkrat. Za obe vrsti žit je bilo kritično leto 1995/96 zaradi pozne setve in dolgotrajne snežne odeje. Pri nerazkuženi pšenici je bil pridelek za 15 %, pri ječmenu pa za 32 % manjši v primerjavi z najbolj učinkovitim razkužilom. Čeprav v Sloveniji od leta 2003 dalje razkuževanje semena, ki izpolnjuje zahteve glede zdravstvenega stanja ni več obvezno, je vse certificirano seme pri nas razkuženo. Pri kvalitetnem certificiranem semenu bi bilo možno brez pomembne škode na pridelku občasno opustiti razkuževanje, predvsem pri setvi v območjih, kjer ni pričakovati dolgega trajanja snežne odeje.

Ključne besede: razkuževanje semena, fungicidi, žita, glivične bolezni, pridelek

ABSTRACT

CEREAL SEED TREATMENT – COMMENTS ON TEN YEARS OF FIELD TRIALS

Cereal seed treatment with fungicides has been a routine measure in Slovenia for several decades. Some important diseases like smuts became less harmful and nowadays they rarely appear in the cereal fields. In the field trials with winter wheat and barley during the years from 1993 to 2004 the influence of seed treatment on disease incidence, overwintering and grain yields was assessed. In five out of eleven trials with wheat the overwintering was significantly better in the treated fields compared with the untreated ones; the yield was higher only twice. The overwintering of the treated barley was better in five experiments out of eight but the yield was higher only once. The 1995/96 winter was critical for both cereal species because of late sowing time and long snow cover. The yield of wheat in untreated plots was reduced for 15 % and yield of barley for 32 % if compared with the most effective fungicide for seed treatment. Although the treatment of seed which fulfils the requirements for disease thresholds has not been obligatory since 2003, all certified seed in Slovenia is treated. Seed treatment is not always justified. Untreated seed of good quality can be used without high risk of yield reduction, especially in regions, where long duration of snow blanket is not expected.

Key words: seed treatment, fungicides, cereals, fungal diseases, yield

¹ univ. dipl. inž. agr., Hacquetova 17, SI-1001, Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

1 UVOD

Razkuževanje semena žit je namenjeno zatiranju bolezni, ki se prenašajo s semenom. Najpomembnejše so različne vrste sneti (ješmenova gola snet (*Ustilago nuda*), pšenična trda ali smrdljiva snet (*Tilletia tritici*), pšenična pritlikava snet (*Tilletia controversa*), snežna plesen (*Microdochium nivale*), pa tudi rjavenje pšeničnih plev (*Septoria nodorum*) in ječmenova progavost (*Pyrenophora graminea*). Bolezni, ki se prenašajo s semenom se lahko hitro širijo iz ene generacije semena v drugo in vplivajo na kakovost semena oz. pridelka. V preteklosti, ko še ni bilo učinkovitih fungicidov, so bili pridelki žit pogosto zmanjšani in pridelano zrnje neuporabno zaradi okužb z navedenimi boleznimi. Razkuževanje semena žit proti glivičnim boleznim je v Sloveniji samoumeven in rutinski postopek že več desetletij. V času prejšnje države je bilo razkuževanje tudi zakonsko predpisano, kar je privedlo do prepričanja, da je setev nerazkuženega semena nevarna in da je v vsakem primeru opustitve razkuževanja ogrožen pridelek. Danes v Sloveniji to področje ureja Pravilnik o trženju semena žit (Uradni list RS št. 8, 2005), ki predpisuje mejne vrednosti okužb semena z nekaterimi glivami. Ukrep razkuževanja semena je zahtevan samo v primeru, ko so te vrednosti presežene, bodisi pri pregledih semenskih posevkov na polju ali v laboratoriju. Pravilnik poleg mejne vrednosti za vsebnost rženih rožičkov v semenu postavlja pri pšenici in ječmenu še mejno vrednost za snežno plesen, pšenično trdo snet in prašnato snet ter ječmenovo golo snet. V certifikacijskem postopku se kakovost semena zagotavlja z redno uporabo fungicidov v semenskih posevkih in s pregledovanjem posevkov na polju ter z laboratorijskim testiranjem. Vendar je pri nas praksa taka, da je seme tretirano s fungicidi tudi v primerih, ko je v postopku certifikacije zdravstveno stanje semena ustrezno in ne presega predpisanih mejnih vrednosti za posamezno bolezen. Pojavlja se vprašanje o smiselnosti rabe razkužil v takih primerih, še posebej če je pridelano seme kakovostno, z dobro kalivostjo in majhnim odstotkom okuženih zrn z nevarnimi glivami.

2 MATERIAL IN METODE

V desetih rastnih dobah med leti 1994/95 in 2003/04 smo v enajstih poljskih poskusih z ozimno pšenico in v osmih z ozimnim ječmenom ugotavljali vpliv razkuževanja semena s fungicidi na uspevanje obeh žit. Poskusi so bili postavljeni v bločni zasnovi, v štirih ponovitvah z osnovno parcelo veliko 5 m². Da smo v poskusih zagotovili zadostno okužbo z boleznimi, smo sejali seme, ki je izviralo iz okuženih posevkov. Seme smo razkuževali s stresanjem semena in ustrezno razredčenega pripravka v zaprti posodi. Poskusi so potekali na poljih v Jabljah pri Trzinu. Ocenjevali smo vpliv razkužil na prezimitev posevka, na okuženost z glivičnimi boleznimi ter na pridelek zrnja. V jeseni smo po končanem vzniku prešteli rastline na označenem delu poskusnih parcel in nato na istem mestu še enkrat spomladi ter ugotavljali odstotek rastlin, ki so prezimile. Spomladi smo ocenjevali okuženost posameznih rastlin pšenice oz. ječmena z boleznimi, ki povzročajo rjavenje in nekroze korenin in stebelc. Vizualno smo ocenili odstotek nekrotizirane površine korenin in stebelc 50 rastlin v vsaki ponovitvi po skali z ocenami od 0 do 3. Ocena 0 je pomenila 0 % okužbe, 1 okužbe od 1 % do 24 %, 2 od 25 % do 50 % in 3 od 51 % do 100 %. Zaradi nespecifičnih bolezenskih znamenj na koreninah in stebelcih, s to metodo nismo ugotavljali katere glive so povzročile spremembe, temveč smo jih obravnavali kot sklop bolezni. Okužbo za posamezno parcelo smo izračunali po formuli Townsend-Heuberger. Okužbo z ječmenovo golo snetjo smo ocenili s štetjem snetljivih klasov na poskusnih parcelah. Pridelek zrnja smo izračunali iz podatkov o masi pridelanega zrnja na posamezno parcelo in podatkov o vlagi v zrnju. Podatki o prezimitvi in pridelku so bili obdelani z analizo variance. V poskuse so bila v posameznih letih vključena razkužila z različnimi aktivnimi snovmi, vsakič smo za primerjavo sejali tudi nerazkuženo seme. Večina od teh razkužil razen treh je v letu 2009 še vedno v

uporabi za razkuževanje semena žit pri nas. Kot primerjalni pripravek je bil pri pšenici in ječmenu največkrat uporabljen pripravek Vitavax 200-FF.

Preglednica 1: Pregled uporabljenih aktivnih snovi v poskusih s pšenico in ječmenom po letih Table 1: Active ingredients used in trials with wheat and barley

Aktivna snov	92/ 93	93/ 94	94/ 95	95/ 96	96/ 97	97/ 98	98/ 99	99/ 00	00/ 01	01/ 02	03/ 04
Triadimenol	P	P			P, J						
Guazatinacetat	P	P									
Karboksin + tiram			P, J	P	P, J	J	P	P, J	P, J	P, J	
Fludioksonil			P	P			P	P	P	P	P
Difenokonazol				P			P				
Tebukonazol			J	J	P, J		P				
Tebukonazol					P, J	J		P, J	P, J	J	P, J
Tebukonazol + tiram								P, J		P	P, J
Karbendazim + dinikonazol							P	P, J			
tebukonazol + protiokonazol											P, J
Ciprokonazol + fludioksonil			J	J		J					

P-pšenica, J-ječmen

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V Preglednicah 2 in 3 so strnjeni rezultati desetletnih poskusov za pšenico in ječmen. Zaradi velikega števila podatkov je za vsako leto navedena le učinkovitost najboljšega in najslabšega pripravka v poskusu. Kjer so vrednosti vpisane, so bile razlike med razkuženim semenom in nerazkuženo kontrolo statistično značilne, v ostalih primerih razlik ni bilo oziroma niso bile značilne ali pa podatka ni. Pri pšenici je prikazana učinkovitost razkužil na sklop bolezni, povzročiteljic rjavenje stebelc in korenin, učinek na prezimitev rastlin ter na pridelek zrnja, pri ječmenu pa na ječmenovo golo snet, prezimitev in pridelek. Okuženost korenin in stebelc pšenice v času razraščanja je bila v poskusnih letih različna. Na nerazkuženih parcelah so bile okužbe od 9 % pa do 45 %. Z izolacijo iz nekrotičnih delov rastlinic smo ugotovili, da so prevladovale glive iz rodu *Fusarium* in vrsta *Microdochium nivale*, vrsta *Septoria nodorum* se je pojavljala, vendar ne pogosto. Učinkovitost najboljšega razkužila je bila najvišja v letu 1995/96, ko je dosegla 98 %. Značilen vpliv nekaterih razkužil na prezimitev rastlin smo ugotovili v petih poskusnih letih. Pri najslabših pripravkih razlik v prezimitvi glede na nerazkuženo kontrolo ni bilo. Kljub značilno boljši prezimitvi rastlin pri razkuženem semenu, pa je bil pridelek boljši samo v dveh poskusnih letih. V letu 1994/95 pripisujemo ta vpliv močni okužbi sejanega semena z glivo *Septoria nodorum*, ki je bila pred razkuževanjem kar 29 %. Na nerazkuženih parcelah je bil pridelek to leto manjši za 8,5 % v primerjavi z učinkovitim razkužilom. Leto 1995/96 je bilo izjemno ugodno za razvoj snežne plesni, saj je snežna odeja, ki pospešuje razvoj bolezni, trajala 108 dni, kar je bilo največ v vsem obdobju preizkušanja. Na parcelah z nerazkuženim semenom je preko zime propadlo 57 % rastlin, pri najboljšem razkužilu pa je bila prezimitev rastlin skoraj 100 %. Posledično je bilo na parcelah z razkuženim semenom od 10 % do 15 % več pridelka v primerjavi z nerazkuženim.

Pri setvi semena, okuženega z glivo *Microdochium nivale*, imajo vremenske razmere, zlasti trajanje snežne odeje, velik vpliv na razvoj posevka in na pridelek. Podatki o trajanju snežne odeje v Sloveniji po letu 1960 kažejo, da je let, ko sneg dolgo obleži, vse manj in posledično so posevki žit manj ogroženi zaradi snežne plesni. Tudi pri poskusih z ječmenom (Preglednica 3) je bilo kritično leto 1995/96, z močnim pojavom snežne plesni. Prezimitev rastlin je bila pri najboljšem razkužilu za 60 % boljša, kot na kontroli, pridelek zrnja je bil višji za 32 %. K tako veliki razliki v pridelku je poleg snežne plesni pripomogla še močna okužba ječmena z golo ječmenovo snetjo, ki je bila na kontroli 9 %. Pri ječmenu smo v petih zaporednih letih

ugotavljali slabo učinkovitost aktivne snovi karboksina v pripravku vitavax 200-FF na golo ječmenovo snet, ki je bila le od 7 % do 55 %. Drugi pripravki so golo ječmenovo snet dobro zatrli. V letih 1995 in 1996 je bilo v Sloveniji veliko posevkov ječmena, zlasti sorte Robur, okuženih z ječmenovo golo snetjo (Žerjav in sod., 1997).

Preglednica 2: Rezultati v ozimni pšenici

Table 2: Results for winter wheat

Leto	Okužba rastlin pri nerazkuženem semenu %	Učinkovitost pripravkov %		Izboljšanje prezimitve glede na nerazkuženo seme %		Povečanja pridelka %	
		Najboljši pripravek	Najslabši pripravek	Najboljši pripravek	Najslabši pripravek	Najboljši pripravek	Najslabši pripravek
92/93	-	-	-	ne	ne	ne	ne
93/94	-	-	-	13	ne	ne	ne
94/95	9	68	53	-	-	8,5	ne
95/96	45	98	35	57	ne	15	10
96/97	11	75	38	26	ne	ne	ne
98/99	28	67	ne	38	ne	ne	ne
99/00	12	46	31	9	ne	ne	ne
00/01	44	ne	ne	ne	ne	ne	ne
01/02	14	61	21	ne	ne	ne	ne
03/04	20	16	ne	ne	ne	ne	ne

- ni podatka

Preglednica 3: Rezultati v ozimnem ječmenu

Table 3: Results for winter barley

Leto	Okužba s snetjo nerazkuženo seme %	Učinkovitost pripravkov %		Izboljšanje prezimitve glede na nerazkuženo seme (%)		Povečanje pridelka %	
		Najboljši pripravek	Najslabši pripravek	Najboljši pripravek	Najslabši pripravek	Najboljši pripravek	Najslabši pripravek
94/95	-	-	-	-	-	ne	ne
95/96	9,0	86	44*	60	ne	32	ne
96/97	1,6	100	50	20	ne	ne	ne
97/98	1,5	100	7	ne	ne	ne	ne
99/00	0,8	100	55	ne	ne	-	-
00/01	0,8	100	20	-	-	ne	ne
01/02	1,0	100	91	ne	ne	ne	ne
03/04	0,2	100	100*	ne	ne	ne	ne

- ni podatka, * v poskusu ni bil uporabljen karboksina

Predpostavljamo, da je do tega pojava prišlo zaradi širjenja odpornih različic glive na karboksini, ki se je tedaj pogosto uporabljal za razkuževanje semena ječmena. Odpornost glive *Ustilago nuda* na karboksini je bila v Evropi večkrat dokazana (Newcombe in Thomas 1991, Menzies in sod. 2005).

4 SKLEPI

Razkuževanje semena pšenice in ječmena je le v nekaterih poskusnih letih značilno vplivalo na pridelek. Pri pšenici je bil pridelek zrnja boljši le v dveh izmed desetih poskusnih let, pri ječmenu pa samo enkrat v osmih letih, čeprav je bilo v poskusih uporabljeno necertificirano seme, okuženo z glivičnimi boleznimi. Pri setvi certificiranega semena, pri katerem okužbe ne presegajo dovoljenih vrednosti, je vpliv razkuževanja semena na pridelek še manjši, zato razkuževanje takega semena ni potrebno.

5 LITERATURA

- Menzies, J. et al, 2005. Occurrence of carboxyn-resistant strain of *Ustilago nuda* in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 44, 2: 216-219
- Newcombe G., Thomas, P., L., 1991. Incidence of Carboxin Resistance in *Ustilago nuda*. *Phytopathology*, 81, 3: 247-250
- Žerjav, M., Rutar, R., 1997. Okužba semenskih posevkov ozimnega ječmena in semena v prometu z ječmenovo golo snetjo (*Ustilago nuda* (Jens.) Rostr.) v Sloveniji v letih 1995 in 1996. V: Maček, J. (ur.). Zbornik predavanj in referatov 3. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Portorož, 4.-5. marec 1997. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 1997: 277-183

MOLEKULARNA DIAGNOSTIKA RASTLINSKO-PARAZITSKIH OGORČIC V SLOVENIJI

Barbara GERIČ STARE¹, Saša ŠIRCA², Polona STRAJNAR³, Gregor UREK⁴

^{1,2,3,4}Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

Za ustrezno in učinkovito zatiranje škodljivcev je ključnega pomena pravilna in hitra identifikacija vrste škodljivca. Poleg morfoloških analiz rastlinsko-parazitskih ogorčic so za identifikacijo izrednega pomena novejšje molekularne metode. V sestavku predstavljamo molekularne metode za identifikacijo rastlinsko-parazitskih ogorčic, ki jih trenutno opravljamo na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Predstavljamo metode kot so PCR, PCR v realnem času, PCR-RFLP, določanje nukleotidnega zaporedja rDNA ter analize proteinov za ogorčice rodov *Bursaphelenchus*, *Globodera* in *Meloidogyne*.

Ključne besede: molekularna diagnostika, nukleotidno zaporedje rDNA, PCR v realnem času, rastlinsko-parazitske ogorčice, RFLP.

ABSTRACT

MOLECULAR DIAGNOSTICS OF PLANT-PARASITIC NEMATODES IN SLOVENIA

Correct and quick identification of the species is of the utmost importance for suitable and effective control of the pests. The new molecular methods are gaining importance in the identification of plant-parasitic nematodes in addition to morphometrical analyses of the nematodes. We present the molecular diagnostic methods for identification of plant-parasitic nematodes at the Agricultural Institute of Slovenia used today. Methods such as PCR, real-time PCR, PCR-RFLP, rDNA sequencing and protein analysis for *Bursaphelenchus*, *Globodera* and *Meloidogyne* genera are discussed.

Key words: rDNA sequence, molecular diagnostics, plant-parasitic nematodes, real-time PCR, RFLP.

1 UVOD

Natančna identifikacija je osnova za diagnostiko, ukrepanje in preprečitev škode, ki jo povzročajo rastlinsko-parazitske ogorčice. Posamezne ogorčice so pogosto identificirane oz. razločevane na osnovi morfoloških značilnosti, vrsti gostitelja in patoloških učinkih na gostitelja. Vendar pa ti kriteriji pogosto niso zadostni za nedvoumno identifikacijo. Molekularne tehnike na osnovi nukleinskih kislin in proteinov zagotavljajo orodje za premagovanje teh pomanjkljivosti. Še posebno uvedba metode verižna reakcija s polimerazo ali PCR, ki jo je Kary Mullis razvil leta 1984, je povzročila pravo revolucijo na področju taksonomije in genetike rastlinsko-parazitskih ogorčic. V glavnem zato, ker njena občutljivost omogoča pomnoževanje genov oz. delov genov iz minimalne količine genomske DNA. To je

¹ dr., univ. dipl. biol., Hacquetova 17, 1000 Ljubljana, Slovenija, e-naslov: barbara.geric@kis.si

² dr., univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., mlada raziskovalka, prav tam

⁴ dr., univ. dipl. inž. agr., prav tam

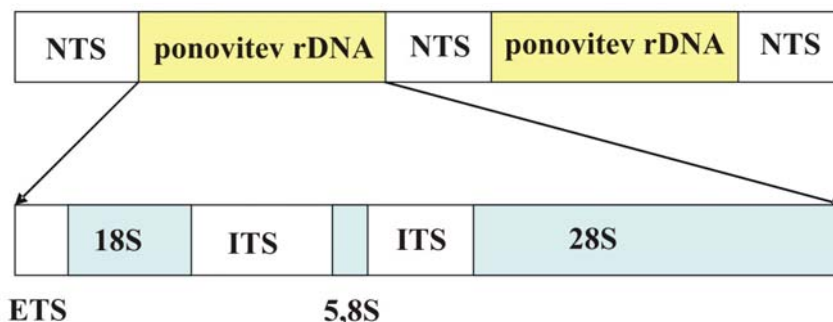
še posebej pomembno, saj je pogosto nemogoče pridobiti ali izolirati zadostno količino materiala iz nekaterih rastlinsko-parazitske ogorčice za navadne biokemijske analize (Gasser, 2001).

V sestavku predstavljamo molekularne metode za identifikacijo rastlinsko-parazitskih ogorčic, ki jih trenutno opravljamo na Kmetijskem inštitutu Slovenije.

2 VERIŽNA REAKCIJA S POLIMERAZO ALI PCR IN GELSKA ELEKTROFOREZA

Metoda PCR ali verižna reakcija s polimerazo omogoča selektivno encimsko pomnoževanje dela genoma *in vitro*. Matrico, dvo-verižno genomsko DNA s segrevanjem denaturiramo oz. razpremo dvojno verigo. Naknadno zmanjšanje temperature omogoči paru začetnih oligonukleotidov hibridizacijo oz. vezavo na komplementarno zaporedje matrice. Termostabilen encim DNA polimeraza nato omogoča sintezo DNA od mesta naleganja začetnih oligonukleotidov vzdolž matrice tako, da nastane dvo-verižna molekula DNA. Sintezo na tak način ponavljamo navadno 35-krat v avtomatskem cikličnem termostatu. V vsakem ciklu se izbrani del matrične molekule DNA podvoji, tako da imamo na koncu reakcije več milijonov kopij originalne matrice na voljo za nadaljnje analize.

Del genoma, ki ga želimo pomnožiti z metodo PCR, izberemo glede na namen eksperimenta. Za identifikacijo vrste in tudi drugih taksonomskih nivojev se je kot zelo ustrezen molekularni označevalec izkazal predel genoma, imenovan ribosomalna DNA ali rDNA. rDNA nosi zapis za ribosomalno RNA in vmesna nekodirajoča zaporedja, v genomu pa jo najdemo v velikem številu zaporednih ponovitev (slika 1). Značilnost rDNA je velika evolucijska stabilnost in vrstna specifičnost. Posamezni predeli so specifični za nivo vrste, spet drugi za višje taksonomske skupine. To omogoča uporabo vrstno-specifičnih ali univerzalnih začetnih oligonukleotidov za pomnoževanje odseka rDNA pri različnih vrstah znotraj skupine rastlinsko-parazitskih ogorčic.

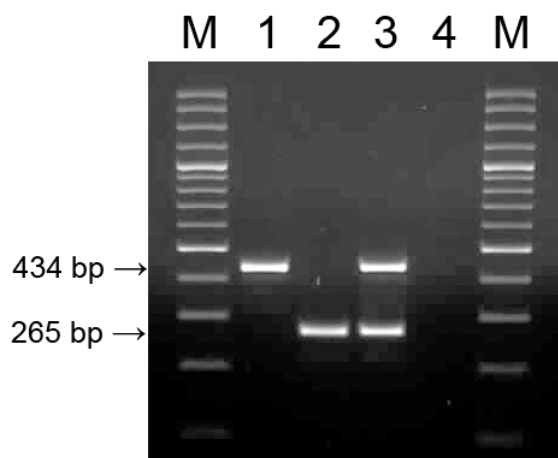


Slika 1: Shematski prikaz rDNA evkariontskih organizmov. Tandemsko se ponavlja predel, ki nosi zapis za 18S, 5,8S in 28S rRNA ter vmesna nekodirajoča zaporedja označena z ITS (notranji prepisani vmesnik), ETS (zunanji prepisani vmesnik) in NTS (ne-prepisani vmesnik).

Figure 1: Schematics of rDNA of eukaryotic organisms. Tandem repeats of the region comprised of 18S, 5.8S and 28S rRNA genes and intermediate noncoding regions marked as ITS (internal transcribed spacer), ETS (external transcribed spacer) and NTS (non transcribed spacer).

Rumene in bele cistotvorne krompirjeve ogorčice *Globodera rostochiensis* in *G. pallida* lahko ločimo na principu dupleks PCR reakcije, kjer pomnožimo predel rDNA, ki zajema del 18S in del ITS1 regije. Uporabimo en univerzalni začetni oligonukleotid, ki prepozna obe vrsti, ter dva specifična, za vsako vrsto enega (Bulman in Marshal, 1997). Pomnoženi predel rDNA

molekule je različno dolg za izbrani vrsti in omogoča enostavno in nedvoumno identifikacijo vrste (slika 2). Metoda je ustrezna tudi za identifikacijo mešanih vzorcev obeh vrst.



Slika 2: Fotografija agaroznega gela s produkti dupleks PCR reakcije za identifikacijo vrst *G. rostochiensis* in *G. pallida*. DNA lestvica 100 bp Plus (Fermentas) (oznaka M), kolona 1: proga velikosti 434 bp značilna za *G. rostochiensis*, kolona 2: proga velikosti 265 bp značilna za *G. pallida*, kolona 3: prisotnost *G. rostochiensis* in *G. pallida*, kolona 4: negativna kontrola, namesto matrične DNA je v reakcijo dodana voda.

Figure 2: A photography of agarose gel with products of dupleks PCR reaction for identification of *G. rostochiensis* and *G. pallida*. DNA ladder 100 bp Plus (Fermentas) (marked M), column 1: bend of 434 bp typical of *G. rostochiensis*, column 2: bend of 265 bp typical of *G. pallida*, column 3: presence of *G. rostochiensis* and *G. pallida*, column 4: negative control, water instead of matrices DNA is put into reaction.

Velikost DNA produkta, ki je nastal v PCR reakciji, lahko ocenimo z gelsko elektroforezo. Gelska elektroforeza je tehnika za ločevanje nukleinskih kislin ali proteinskih molekul s pomočjo električnega toka v gelu. Molekule potujejo v električnem polju glede na svoj naboj in velikost proti ustrezno nabiti elektrodi. Negativno nabita molekula DNA potuje skozi mrežo agaroznega gela proti anodi, hitrost potovanja pa je poleg naboja odvisna še od velikosti molekule: manjše molekule potujejo hitreje, večje molekule pa počasneje. Podobno pozitivne molekule potujejo proti katodi. Proučevane molekule obarvamo s pomočjo različnih barvil kot so etidijev bromid ali SYBR® Safe za nukleinske kisline ter srebro ali comassie modro za proteine. V našem primeru DNA molekule, ki smo jih namnožili v reakciji PCR, obarvamo z etidijevim bromidom. Ta ima lastnost, da pri UV svetlobi fluorescira, zato agarozni gel fotografiramo pod UV svetlobo.

3 PCR Z DETEKCIJO V REALNEM ČASU

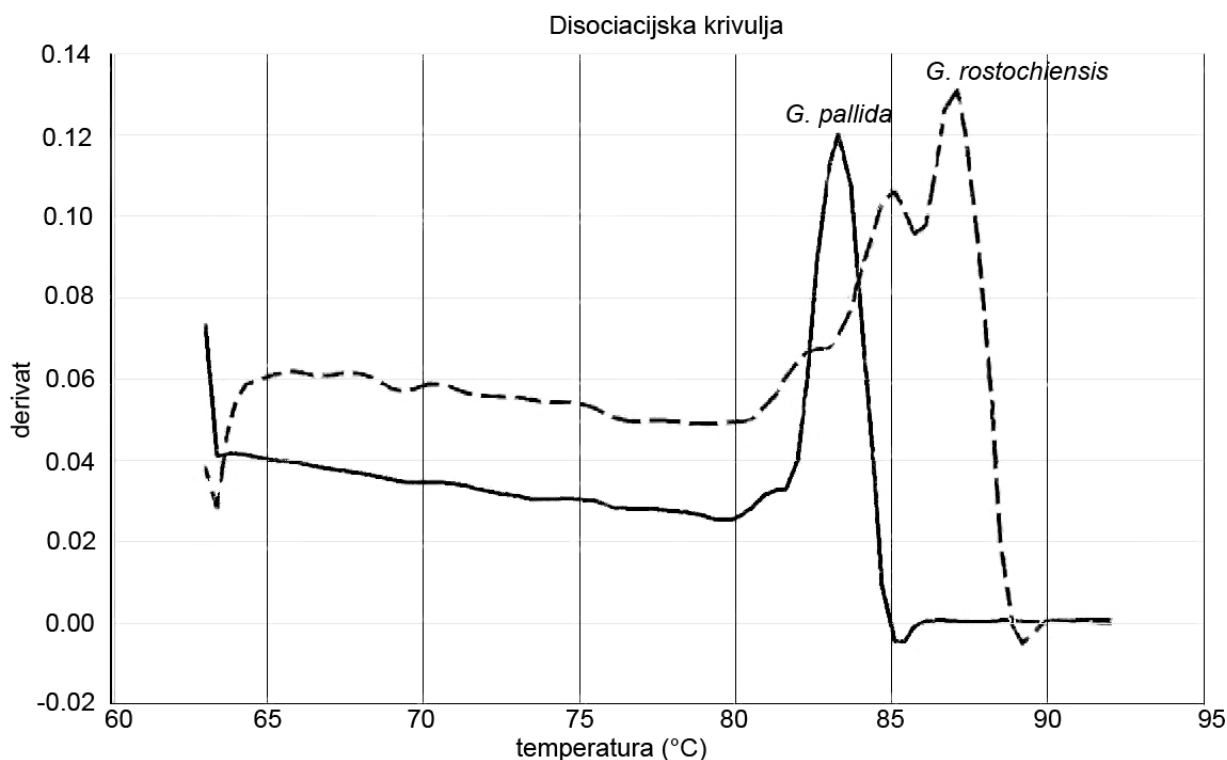
Metoda PCR z detekcijo v realnem času temelji na metodi PCR. Uporablja se za pomnoževanje matrične DNA molekule, kjer je poleg detekcije možna tudi hkratna kvantifikacija produkta. Ključna razlika od klasične PCR metode je ta, da pri PCR z detekcijo v realnem času pomnoženo DNA kvantificiramo v *realnem času* po vsakem ciklu encimskega pomnoževanja.

Na ta način se izognemo detekciji produkta na koncu pomnoževanja s pomočjo gelske elektroforeze, kar pomeni, da je identifikacija z metodo PCR in detekcijo v realnem času hitrejša. Hitrejša identifikacija pa lahko predstavlja v diagnostičnem laboratoriju veliko prednost. Na osnovi identifikacije škodljivcev odločamo o korektivnih ukrepih, katerih uspešnost je lahko neposredno odvisna od hitrosti ukrepanja. Poleg tega lahko dolgotrajna

identifikacija pomeni tudi veliko ekonomsko breme, če npr. določenega materiala ne moremo uvoziti zaradi suma na zastopanost karantenskih škodljivcev.

Obstajata dva osnovna principa metode PCR z detekcijo v realnem času glede na uporabljeno kemijo v reakciji. Prva možnost je uporaba fluorescentnega barvila (npr. SYBR green), ki se interkalarno veže z dvojno vijačnico DNA molekule. Druga možnost je uporaba modificirane oligonukleotidne sonde (npr. TaqMan), ki fluorescira, ko je hibridizirana s komplementarno verigo DNA.

Zgoraj opisano identifikacijo cistotvornih krompirjevih ogorčic vrst *G. rostochiensis* in *G. pallida*, kjer pomnožimo različno dolžino predela rDNA za izbrani vrsti, lahko testiramo tudi po metodi PCR z detekcijo v realnem času in uporabo fluorescentnega barvila SYBR green (Bačić *et al.*, 2008). DNA pomnožujemo v cikličnem termostatu z detekcijo v realnem času (Applied Biosystems 7500 Real Time PCR System). Ta ima vgrajen detektor fluorescence in je povezana z računalnikom. Rezultate merjenja fluorescence po vsakem ciklu pomnoževanja obdela poseben računalniški program (Sequence Detection Software v.1.3, Applied Biosystems). Uspešnost pomnoževanja DNA odčitamo iz vrednosti praznega cikla oz. vrednosti C_t (threshold cycle). Vrsto specifičnost pomnožene molekule DNA določimo glede na temperaturo disociacije produkta, to pomeni temperaturo, pri kateri se dvojna vijačnica DNA razpre. Različno dolge molekule DNA oz. molekule DNA z različnim zaporedjem nukleotidov disociirajo pri različni temperaturi (slika 3).



Slika 3: Vrh disociacijske krivulje $87.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ pomeni prisotnost vrste *G. rostochiensis*, $83.3 \pm 0.5^\circ\text{C}$ pa prisotnost vrste *G. pallida*.

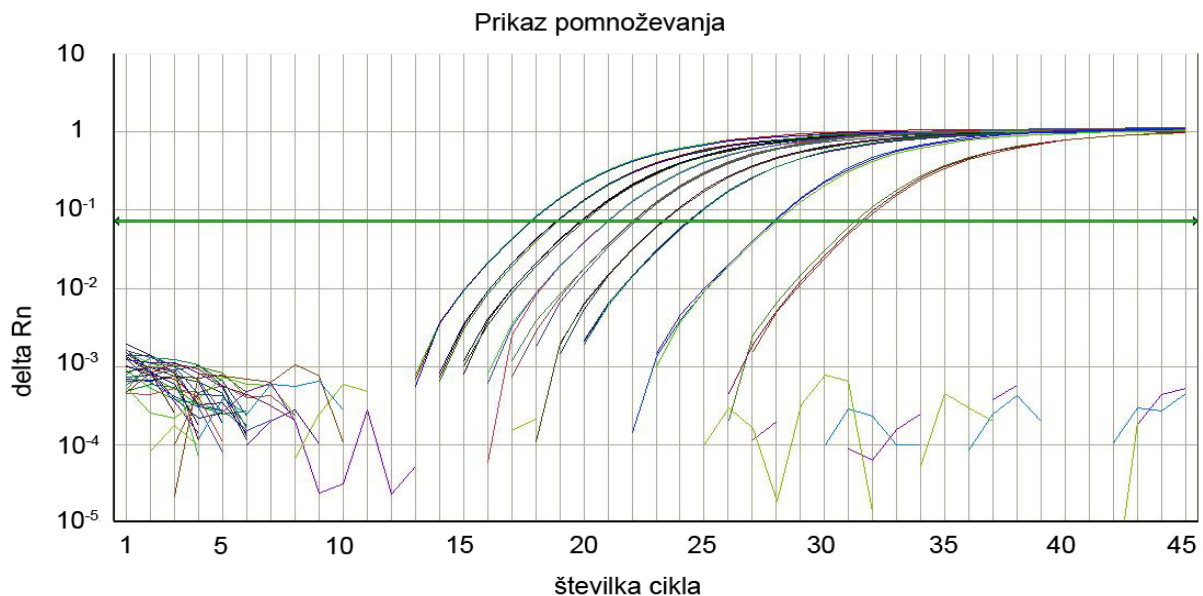
Figure 3: Peaks of dissociation curve $87.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and $83.3 \pm 0.5^\circ\text{C}$ indicate presence of *G. rostochiensis* and *G. pallida*, respectively.

Metoda PCR z detekcijo v realnem času po drugem principu, to je z uporabo specifične sonde označene s fluorescentnim barvilom, velja za najbolj specifično, vendar tudi najdražjo metodo. Tako lahko vrsti *G. rostochiensis* in *G. pallida* identificiramo tudi s pomočjo metode, ki temelji na TaqMan kemiji. V tem primeru predel rDNA pomnožujemo s pomočjo para

vrstno specifičnih začetnih oligonukleotidov ter vrstno specifičnih sond, ki so jih razvili na inštitutu SCRI (Blok *et al.*, neobjavljeno). Za razliko od prejšnjega načina, kjer fluorescirajo vse molekule dvojne vijačnice DNA v vzorcu, tudi pari začetnih oligonukleotidov in nespecifični produkti, v tem primeru fluorescirajo samo specifične molekule dvojne vijačnice DNA, ki jih v reakciji pomnožujemo. Uspešnost pomnoževanja DNA odčitamo iz vrednosti praznega cikla.

Po istem principu, z uporabo specifičnih začetnih oligonukleotidov in TaqMan sonde (Cao *et al.*, 2005) hitro določimo tudi zastopanost nevarne borove ogorčice *Bursaphelenchus xylophylus* v vzorcu.

Metoda PCR z detekcijo v realnem času je izredno občutljiva metoda, kar pomeni, da lahko pomnožimo DNA tudi iz izredno majhnega začetnega vzorca matrične DNA (slika 4). Po naših izkušnjah je 0,5 pg ali celo manj genomske DNA že dovolj za uspešno pomnoževanje. Za primerjavo naj navedemo, da po klasičnem načinu izolacije genomske DNA iz posamezne ciste krompirjeve ogorčice pridobimo nekaj μg genomske DNA. Takšna izredna občutljivost metode nam omogoča, da namesto klasične metode izolacije DNA pripravimo kar enostaven homogenizat ogorčic v destilirani vodi in tak grobi ekstrakt DNA uporabimo kot matrično DNA v PCR reakciji z detekcijo v realnem času. Tako pridemo do primerljivih rezultatov identifikacije še hitreje, saj ne potrebujemo enega dneva za izolacijo genomske DNA, pač pa homogenizat pripravimo v nekaj minutah.



Slika 4: Grafični prikaz naraščanja fluorescence med reakcijo PCR z detekcijo v realnem času pri vzorcih z razredčeno genomsko DNA, ki ga uporabljamo pri določanju občutljivosti metode.

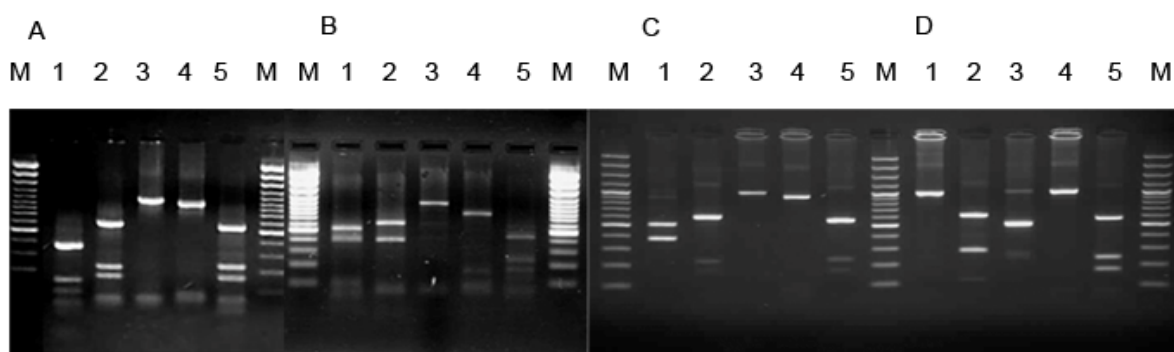
Figure 4: The schematics of the increase of fluorescence during the real-time PCR reaction in the samples with serial dilution of genomic DNA used for determination of method's sensitivity.

4 POLIMORFIZEM DOLŽIN RESTRIKCIJSKIH FRAGMENTOV ALI PCR-RFLP

Metoda polimorfizma dolžin restrikcijskih fragmentov je način analize variabilnosti v nukleotidnem zaporedju DNA molekule. Tarčno molekulo DNA, ki jo predhodno pomnožimo s PCR reakcijo, razrežemo v manjše molekule z restrikcijskimi encimi, njihove velikosti pa

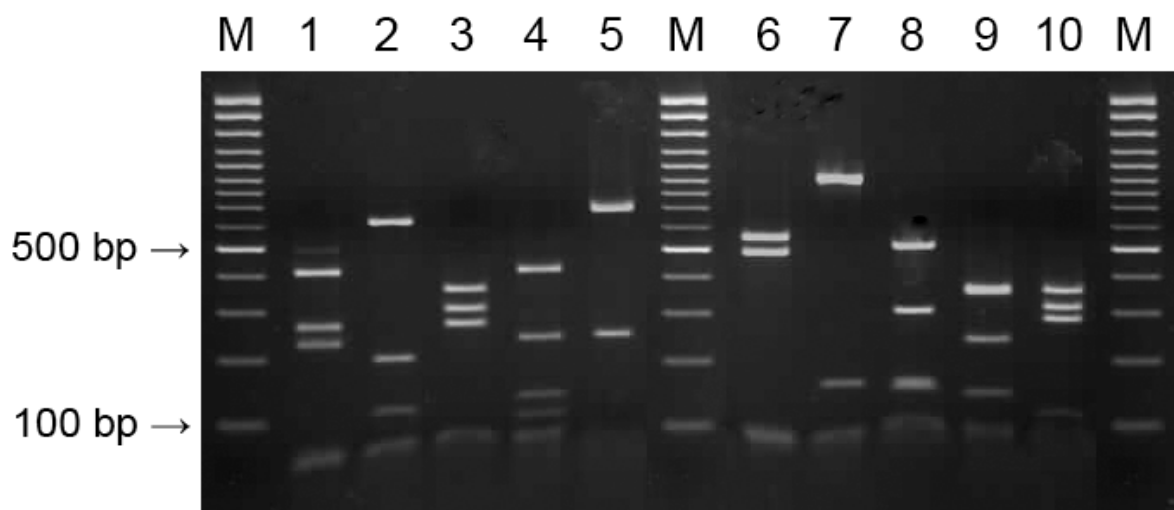
določimo z gelsko elektroforezo. Restriksijski encimi prepoznajo specifična kratka zaporedja v DNA molekuli in jo na tem mestu prerežejo (restrikcija). Če imajo DNA molekule iz različnih vzorcev variabilnost na mestu, ki ga prepozna restriksijski encim, bomo to zaznali kot različen vzorec prog na agaroznem gelu.

V sklopu molekularnega dela smo na Kmetijskem inštitutu razvili PCR-RFLP metodo, s katero ločimo med štirimi vrstami ogorčic iz rodu *Globodera*. Ločimo vrsti krompirjevih ogorčic *G. rostochiensis* in *G. pallida*, z ekonomskega vidika neškodljivo vrsto rmanove ogorčice *G. achilleae* ter tobakovo ogorčico *G. tabacum* (Širca *et al.*, 2002; Širca in Urek, 2004 b; avtorji, neobjavljeno). V PCR reakciji pomnožimo predel rDNA z univerzalnimi začetnimi oligonukleotidi. Na podlagi specifičnega vzorca po restrikciji s petimi restriksijskimi encimi ločimo med omenjenimi vrstami ogorčic (slika 5). Rmanova ogorčica *G. achilleae* je razmeroma pogosto zastopana na pridelovalnih površinah širom po Sloveniji in to novo molekularno orodje pripomore k ločevanju med vrstami, ki so paraziti krompirja, in neškodljivo vrsto.



Slika 5: Fotografija agaroznega gela s PCR-RFLP vzorci ITS regije za vrste *G. rostochiensis* (A), *G. pallida* (B), *G. tabacum* (C) in *G. achilleae* (D). DNA lestvica 100 bp Plus (Fermentas) (oznaka M), uporabljeni restriksijski encimi 1. *AluI*, 2. *RsaI*, 3. *MspI*, 4. *HinfI*, 5. *MboI*.

Figure 5: A photograph of an agarose gel with PCR-RFLP patterns of *G. rostochiensis* (A), *G. pallida* (B), *G. tabacum* (C) and *G. achilleae* (D). DNA ladder 100 bp Plus (Fermentas) (marked M), restriction enzymes used 1. *AluI*, 2. *RsaI*, 3. *MspI*, 4. *HinfI*, 5. *MboI*.

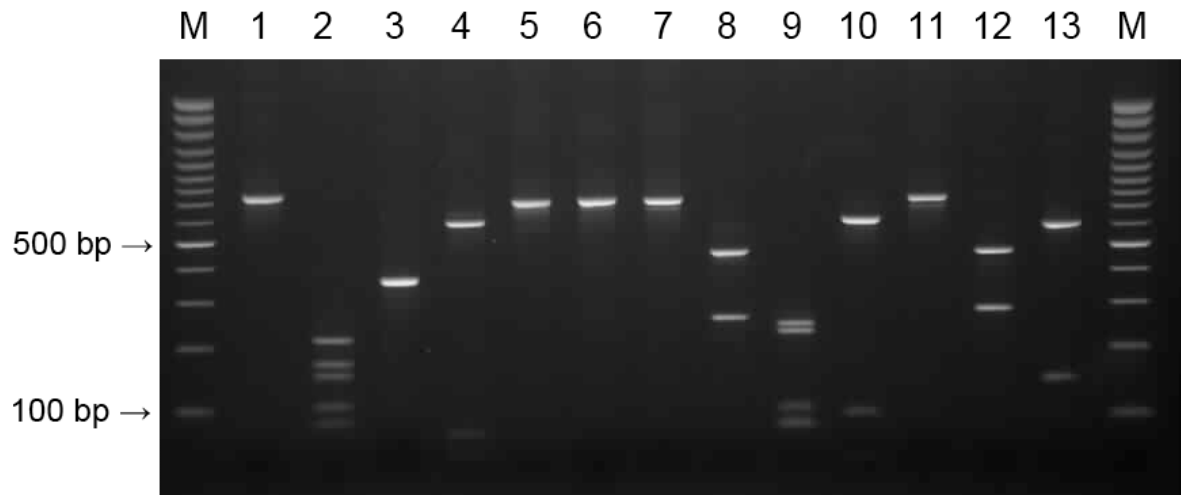


Slika 6: PCR-RFLP vzorci za vrsti *B. mucronatus* evropski genotip (levo) ter *B. hofmanii* (desno). DNA lestvica 100 bp Plus (Fermentas) (oznaka M), uporabljeni restriksijski encimi 1. *RsaI*, 2. *HaeIII*, 3. *MspI*, 4. *HinfI*, 5. *AluI*.

Figure 6: PCR-RFLP patterns of *B. mucronatus* european genotype (left) and *B. hofmanii* (right). DNA ladder 100 bp Plus (Fermentas) (marked M), restriction enzymes used 1. *RsaI*, 2. *HaeIII*, 3. *MspI*, 4. *HinfI*, 5. *AluI*.

Po podobnem principu, s PCR-RFLP metodo, kjer namnožen predel rDNA molekule razrežemo s petimi restrikcijskimi encimi, lahko določimo 26 najpogostejših vrst rodu *Bursaphelenchus* (Burgermeister *et al.*, 2005). Po tej metodi smo v Sloveniji določili prisotnost vrst *B. hofmanii* ter *B. mucronatus* (Urek *et al.*, 2006) (slika 6).

Vrsto ogorčice koreninskih šišek *Meloidogyne ethiopica*, ki smo jo v Sloveniji našli prvič v Evropi, smo proučili z PCR-RFLP metodo rDNA regije in trinajstimi restrikcijskimi encimi (slika 7) (Urek *et al.*, 2006).



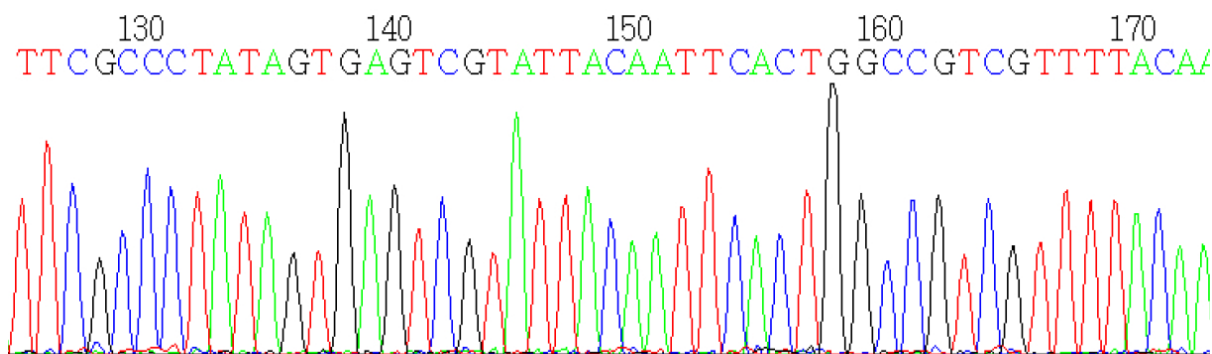
Slika 7: PCR-RFLP vzorec za vrsto *M. ethiopica*. DNA lestvica 100 bp Plus (Fermentas) (oznaka M), uporabljeni restrikcijski encimi 1. *AccI*, 2. *AluI*, 3. *DraI*, 4. *DdeI*, 5. *EcoRI*, 6. *HaeIII*, 7. *HindIII*, 8. *HinfI*, 9. *MboI*, 10. *MspI*, 11. *MunI*, 12. *PstI*, 13. *RsaI*.

Figure 7: PCR-RFLP pattern for *M. ethiopica*. DNA ladder 100 bp Plus (Fermentas) (marked M), restriction enzymes used 1. *AccI*, 2. *AluI*, 3. *DraI*, 4. *DdeI*, 5. *EcoRI*, 6. *HaeIII*, 7. *HindIII*, 8. *HinfI*, 9. *MboI*, 10. *MspI*, 11. *MunI*, 12. *PstI*, 13. *RsaI*.

5 DOLOČANJE NUKLEOTIDNEGA ZAPOREDJA DNA

Kljub veliki ločljivosti zgoraj opisanih metod najbolj popolno informacijo o zgradbi DNA molekule dobimo z metodo določanja nukleotidnega zaporedja DNA. S to metodo določimo primarno strukturo molekule DNA, ki jo prikažemo kot linearen simboličen opis strukture. Zaporedje osnovnih gradnikov molekule DNA, nukleotidov, prikažemo s simboli A, C, G in T (adenin, citozin, gvanin in timin).

Navadno uporabljamo metodo, ki jo je razvil Frederick Sanger (metoda po Sangerju), kjer zaporedje določimo s pomočjo prekinitve sinteze DNA. Vzdolž molekule DNA, ki ji želimo določiti zaporedje, sintetiziramo nove molekule DNA s pomočjo začetnega oligonukleotida, encima DNA polimeraza in štirimi osnovnimi gradniki DNA molekule – nukleotidi A, C, G in T, skupaj z majhno koncentracijo nekoliko spremenjenih nukleotidov (navadno di-deoksinukleotidov). Ko se v rastočo verigo vgradi spremenjen nukleotid, se sinteza molekule ustavi. Zmes molekul, ki nastanejo v reakciji nato po velikosti ločimo z elektroforezo na poliakrilamidnem gelu ali v stekleni kapilari z viskozno matriksom. Modificirani nukleotidi, ki ustavijo sintezo DNA verige, so dodatno označeni z barvilom. To nam razkrije, kateri je bil zadnji nukleotid, ki se je vgradil v molekuli določene velikosti ter omogoči določitev zaporedja nukleotidov DNA molekule (slika 8).



Slika 8: Grafični prikaz določanja strukture DNA molekule imenovan kromatogram prikaže pozicijo nukleotidov v DNA molekuli (A, C, G, T).

Figure 8: The schematics of DNA sequencing named cromatogram shows position of nucleotides in DNA molecule (A, C, G, T).

Podobno kot z metodami PCR, PCR z detekcijo v realnem času ali PCR-RFLP določimo zastopanost vrste na podlagi specifične DNA molekule. Določanje nukleotidnega zaporedja rDNA omogoča izredno natančno in zanesljivo identifikacijo vrste tudi pri vzorcih, kjer druge metode ne dajo jasnega odgovora. Določeno zaporedje proučevanega vzorca z orodjem BLAST primerjamo z zaporedjem iste in sorodnih vrst oz. z vsemi določenimi zaporedji DNA molekul, ki so shranjena v javno dostopnih bazah (npr. GenBank). Velika podobnost ali identičnost našega novo določenega zaporedja z referenčnimi zaporedji v bazi pomeni pripadnost določeni vrsti. Na tak način smo določili sledeče vrste rastlinsko-parazitskih ogorčic (preglednica 1). Določanje nukleotidnega zaporedja rDNA se uporablja tudi za proučevanje sorodstvenih odnosov med vrstami, ki jih grafično ponazorimo s filogenetskimi drevesi (Širca in Urek, 2004 b, Urek *et al.*, 2007, Strajnar *et al.*, 2009).

Preglednica 1: Identifikacija vrst rastlinsko-parazitskih ogorčic na osnovi nukleotidnega zaporedja dela rDNA molekule s pripadajočimi številkami zaporedja v javni bazi zaporedij DNA.

Table 1: Identification of plant-parasitic nematode-species based on nucleotide sequence of rDNA molecule with the corresponding GenBank accession numbers of the sequences in a public database.

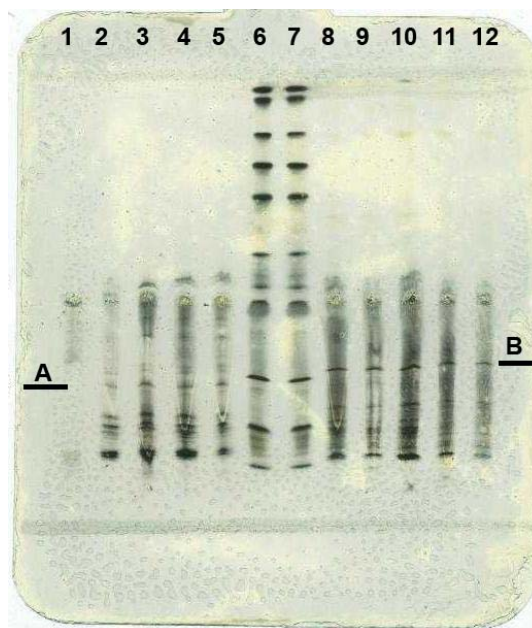
vrsta	št. zaporedja v bazi GenBank	reference
<i>Globodera rostochiensis</i>	AY700060	Širca in Urek, 2004 b
<i>Globodera achilleae</i>	AY599498	Širca in Urek, 2004 b
<i>Globodera tabacum</i>	FJ667945, FJ667946	Gerič Stare in Širca, neobjavljeno
<i>Bursaphelenchus mucronatus</i>	DQ841162	Urek in sod., 2007
<i>Bursaphelenchus hofmanii</i>	DQ841163	Urek in sod., 2007
<i>Aphelenchoides stammeri</i>	DQ841164	Urek in sod., 2007
<i>Meloidogyne ethiopica</i>	FJ559408, EU204644	Strajnar <i>et al.</i> , 2009, v tisku

V zadnjih letih se v svetu intenzivno razvija tudi tako imenovana nova generacija tehnologij za določanje nukleotidnega zaporedja, ki nam bo v prihodnosti verjetno omogočala še hitrejšo in cenejšo določanje zaporedja na drugačnem principu, s tem pa tudi večjo uporabo metode določanja nukleotidnega zaporedja DNA kot diagnostične metode za identifikacijo vrste.

6 ELEKTROFOREZA PROTEINOV

Velikost proteinov določamo z metodo gelske elektroforeze proteinov. V električnem polju se proteini v gelu razporedijo glede na njihovo velikost in naboj (glej tudi poglavje 2). V primeru, ko uporabljamo gel z vzpostavljenim pH gradientom, metodo imenujemo

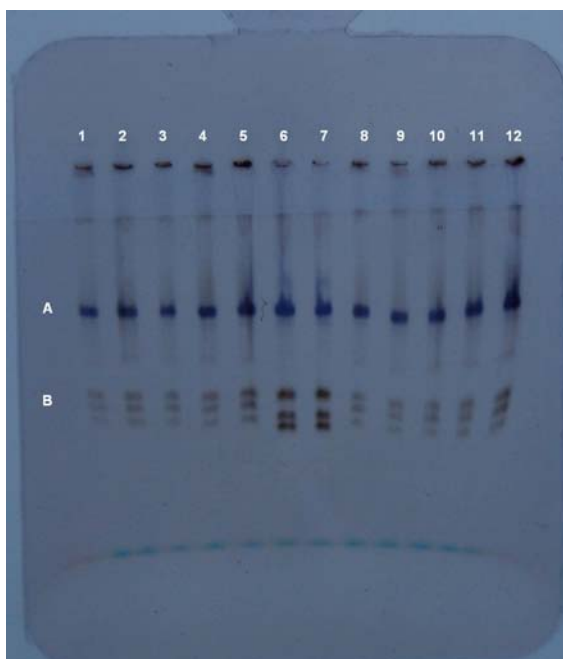
izoelektrično fokusiranje (IEF). Vsak protein je pri določeni pH vrednosti, imenovani izoelektrična točka (pI), na zunaj navidezno električno nevtralen, število pozitivnih nabojev je enako številu negativnih nabojev. Predstavljajmo si, da vzorec nekega proteina naneseemo v gel, v katerem smo poprej vzpostavili pH gradient in gel priklopimo v električno polje. Protein, ki je npr. pri pH vrednosti, pri kateri smo ga na gel nanegli, negativno nabit, bo potoval proti pozitivno nabiti anodi. Gibal se bo vse dokler ne bo dosegel pH vrednosti v gelu, ki je enaka njegovi izoelektrični točki. Takrat bo na zunaj električno nevtralen in gibanje se bo ustavilo. Če imamo v vzorčku dva proteina z različnima izoelektričnima točkama, ju lahko z metodo IEF med seboj ločimo. Proteini so pri pH vrednostih pod izoelektrično točko pozitivno, pri pH vrednostih nad izoelektrično točko pa negativno nabiti (Malovrh, 2007). Cistotvorni vrsti krompirjevih ogorčic *G. rostochiensis* in *G. pallida* lahko ločimo z metodo IEF ločevanja celokupnih proteinov. Vse proteine v osebku ločimo na poliakrilamidnem gelu z gradientom pH (PhastGel 3-9) ter jih obarvamo s srebrom (slika 9) (Širca *et al.*, 2003).



Slika 9: Poliakrilamidni gel prikazuje IEF vzorec posamezne ciste pri vrstah *G. pallida* (kolone 1-5) in *G. rostochiensis* (kolone 8-12), kalibracijski komplet za širok spekter izoelektričnih točk (pI) (koloni 6, 7). Z A in B so označene razlike v pI.

Figure 9: Polyacrylamide gel shows IEF pattern of a single cyst of *G. pallida* (columns 1-5) and *G. rostochiensis* (columns 8-12), broad pI calibration kit (columns 6, 7). A and B mark difference in pI.

Tudi za identifikacijo vrst iz rodu *Meloidogyne* uporabljamo metodo elektroforeze proteinov. Na poliakrilamidnem gelu z gradientom gostote ločimo izoencime. Izoencime malat dehidrogenaze (MDH) in esteraze (EST) obarvamo z encimsko reakcijo s primernim substratom (slika 10) (Širca in Urek, 2004 a; Strajnar *et al.*, 2009). Za referenco se uporablja vzorec *M. javanica*.



Slika 10: Fenotipski vzorec izoenzimov MDH (A) in EST (B) posamezne samice *M. ethiopica* (kolone 1 - 5, 8 - 12) in *M. javanica* (kolone 6, 7) kot reference. Vzorec MDH je pri obeh vrstah enak, vzorec EST pa razlikuje vrsti *M. ethiopica* in *M. javanica*.

Slika 10: Isozymes MDH (A) and EST (B) phenotype patterns of individual female of *M. ethiopica* (lanes 1 - 5, 8 - 12) and *M. javanica* (lanes 6, 7) as a reference. MDH phenotype is not species-specific compared to EST phenotype.

7 ZAKLJUČEK OZ. PREDNOSTI IN SLABOSTI MOLEKULARNIH TEHNIK IDENTIFIKACIJE

Za konec povzemimo prednosti molekularnih tehnik identifikacije:

- identifikacija je možna tudi iz majhnega vzorca začetnega materiala (velika občutljivost metod, še posebno pri metodi PCR z detekcijo v realnem času),
- velika zanesljivost identifikacije (velika specifičnost metod), ki smo jo pokazali tudi v mednarodnih med-laboratorijskih primerjavah identifikacije vzorcev,
- velika hitrost identifikacije (še posebno z metodo PCR z detekcijo v realnem času),
- enostavno sočasno obravnavanje velikega števila vzorcev (še posebno z metodama PCR in PCR z detekcijo v realnem času),
- možnost primerjave rezultatov zaporedja z velikimi javnimi bazami podatkov (za metodo določanja nukleotidnega zaporedja DNA),
- za identifikacijo niso potrebne dolgoletne izkušnje oz. ozka specializiranost za skupino organizmov kot pri identifikaciji rastlinsko-parazitskih ogorčic na osnovi morfoloških značilnosti.

Po drugi strani pa je slabost molekularnih tehnik, da lahko že enostavna zamenjava posamezne baze v molekuli DNA (mutacija) tako spremeni strukturo molekule, da jo z izbranimi začetnimi oligonukleotidi, sondami in restrikcijskimi encimi ne prepoznamo več in identifikacija po izbrani metodi ni mogoča. Zato v praksi kombiniramo identifikacijo na osnovi morfoloških značilnosti z rezultati identifikacije z molekularnimi tehnikami, na voljo pa imamo tudi več molekularnih tehnik za identifikacijo posameznih vrst rastlinsko-parazitskih ogorčic.

8 LITERATURA

- Bačić, J., Gerič Stare, B., Širca, S., Urek, G. 2008. Analyses of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* populations from Serbia by morphometrics and real-time PCR. Russian journal of nematology, 16, 1: 61-63.
- Bulman, S.R., Marshal, J.W. 1997. Differentiation of Australasian potato cyst nematode (PCN) populations using the polymerase chain reaction (PCR). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 25: 123-129.
- Burgermeister, W., Metge, K., Braasch, H., Buchbach, E. 2005. ITS-RFLP patterns for differentiation of 26 *Bursaphelenchus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae) and observations on their distribution. Russian journal of nematology, 13, 1:29-42.
- Cao, A.X., Liu, X.Z., Zhu, S.F., Lu, B.S. 2005. Detection of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, using a real-time polymerase chain reaction assay, Phytopathology, 95: 566-571.
- Gasser Robin, B. 2001. Identification of Parasitic Nematodes and Study of Genetic Variability Using PCR Approaches, str. 53-82, V: Parasitic Nematodes: Molecular Biology, Biochemistry and Immunology, Kennedy, M.W., Harnett, W. (Ur.). CABI Publishing: 486 strani.
- Malovrh, P. 2007. Krvni doping – športniki, novodobni vampirji?. Kvardakabra, <http://www.kvardakabra.net/article.php/Krvni-doping>.
- Strajnar, P., Širca, S., Gerič Stare, B., Urek, G. 2009. Characterization of Root Knot Nematode *Meloidogyne ethiopica* Whitehead, 1968 from Slovenia. Russian Journal of Nematology, v tisku.
- Širca, S., Urek, G. 2004 a. Dissemination of the root knot nematodes, *Meloidogyne* spp. in Slovenia = Razširjenost ogorčic koreninskih šišč, *Meloidogyne* spp. v Sloveniji. Razpr. - Slov. akad. znan. umet., Razr. naravosl. vede, 45, 1: 161-170.
- Širca, S., Urek, G. 2004 b. Morphometrical and ribosomal DNA sequence analysis of *Globodera rostochiensis* and *Globodera achilleae* from Slovenia. Russian journal of nematology, 12, 2: 161-168.
- Širca, S., Urek, G., Karssen, G. 2004. First report of the Root-Knot nematode *Meloidogyne ethiopica* on tomato in Slovenia. Plant disease, 88: 680.
- Širca, S., Urek, G., Meglič, V. 2003. Molecular and biochemical methods used for the identification of *Globodera* species in Slovenia. Plant Protection Science, 39, 4: 151-153.
- Širca, S., Urek, G., Gerič Stare, B., Karssen, G. 2006. Biochemical and molecular characterization of *Meloidogyne* species from Slovenia. V: Jones, J. (ur.). European Society of Nematologists XXVIII International Symposium, programme and abstracts : 50 years ESN, Blagoevgrad, Bolgaria, 5-9 junij 2006. Sofia-Moscow: Pensoft, 2006: 150-151.
- Urek, G., Širca, S., Gerič Stare, B. 2007. Morphometrical and molecular characterization of *Bursaphelenchus* species from Slovenia. Helminthologia (Bratisl.), 44, 2: 37-42.

PRVI POLJSKI POSKUS UPORABE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC V SLOVENIJI

Žiga LAZNIK¹, Tímea TÓTH², Tamás LAKATOS³, Stanislav TRDAN⁴

^{1,4}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

^{2,3}Research and Extension Centre for Fruitgrowing, Újfehértó, Hungary

IZVLEČEK

Entomopatogene ogorčice so učinkoviti biotični agensi za zatiranje žuželk. V prispevku so predstavljeni rezultati prvega poljskega poskusa uporabe EPO pri nas. Ciljna žuželka je bila koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]). Poskus je bil razdeljen na 4 bloke, znotraj vsakega smo preučevali 6 različnih obravnavanj: *S. feltiae* B30 nkon., *S. feltiae* B30 vkonc., Entonem nkon., Entonem vkonc., Actara in kontrola. Glede na populacijsko dinamiko različnih razvojnih stadijev koloradskega hrošča smo ugotovili, da entomopatogene ogorčice učinkujejo le na larvalne stadije, medtem ko na jajčeca in imaga na prostem nimajo vpliva. Insekticid Actara se je izkazal kot najbolj učinkovito obravnavanje, saj je bila smrtnost žuželk tu največja. Preučevali smo tudi vpliv zatiranja škodljivca na pridelek krompirja in ugotovili, da med preučevanima koncentracijama suspenzije ogorčic ni bilo razlik, so se pa tretiranja z entomopatogenimi ogorčicami statistično značilno razlikovala od kontrole in insekticidom Actara, ki je bil najboljši.

Ključne besede: entomopatogene ogorčice, koloradski hrošč, poljski poskus, biotično varstvo

ABSTRACT

FIRST FIELD EXPERIMENT WITH ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES IN SLOVENIA

Entomopathogenic nematodes are effective biological agents to control insect pests. In this paper are presented the results of our first field experiment with entomopathogenic nematodes in Slovenia. Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) was the target pest, which was controlled in our research. The experiment was divided in 4 blocks, in every block were 6 different treatments: *S. feltiae* B30 lconc., *S. feltiae* B30 hconc., Entonem lconc., Entonem hconc., Actara and control. Observing the population dynamics of Colorado potato beetle we conclude, that entomopathogenic nematodes have a big influence on larval stages but on the other hand no effect on egg and adults in field experiment. Insecticide Actara showed the best results among the observations. Here was the mortality of the insect highest. We also studied the effect of controlling Colorado potato beetle on the yield of potato. There were no differences between EPN treatments, however the results using EPN were better than in control treatments and worse as the results of insecticide Actara.

Key words: entomopathogenic nematodes, Colorado potato beetle, field experiment, biological control

¹ asist., mladi raziskovalec, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana, e-mail: ziga.laznik@bf.uni-lj.si

² podiplomska študentka, Vadastag 2, H-4244 Újfehértó, Hungary

³ dr., raziskovalec, prav tam

⁴ prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

1 UVOD

Koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata* Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) velja za enega najbolj gospodarsko pomembnih škodljivcev krompirja (*Solanum tuberosum* L.) v nekaterih državah v Evropi in ZDA (Hare, 1990). Škodljivi stadiji so ličinke, ki se trikrat levijo ter imagi, ki so foliarni škodljivci in lahko v življenjski dobi požro tudi več kot 100 cm² listne površine (Ferro *et al.*, 1985). Škodljivec ima letno od 2 do 3 generacije (Berry, 1998). Prva in druga generacija lahko povzročita tudi do 100 % defoliacijo krompirjevih rastlin, če krompirja ne tretiramo z ustreznimi sredstvi za varstvo rastlin. Ob popolni defoliaciji je lahko pridelek krompirja manjši tudi za več kot 50 % (Hare, 1990). Koloradskega hrošča zatiramo navadno z insekticidi, vendar so nekatere populacije hroščev razvile rezistenco skoraj na vse aktivne snovi (Forgash, 1985), kot tudi na pripravke, ki temeljijo na aktivni snovi *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp. *tenebrionis* (Whalon *et al.*, 1993). Prav zato številni raziskovalci v zadnjem obdobju iščejo rešitve v varstvu krompirja pred škodljivim delovanjem koloradskega hrošča z uporabo predatorjev in parazitoidov (Armer *et al.*, 2004).

EPO iz družin Steinerenmatidae in Heterorhabditidae so pomembni naravni sovražniki žuželk (Kaya, 1990). Gre za talne organizme, ki živijo v mutualističnem odnosu z bakterijami iz rodu *Xenorhabdus* in *Photorhabdus* (Burnell in Stock, 2000). Po vstopu ogorčice v telo žuželke, se iz telesa infektivnih ličink (tretji larvalni stadij EPO) sprostijo simbiotske bakterije v hemolimfni sistem gostitelja in z izločanjem nekaterih toksinov povzročijo njegovo smrt v 24 do 72 urah (Forst in Clarke, 2002).

EPO so bile do nedavnega v Sloveniji znane kot t. i. tujerodni organizmi, katerih uporaba je bila mogoča le v laboratorijskih poskusih (Trdan *et al.*, 2006; Trdan *et al.*, 2008). Od leta 2006 aktivno preučujemo favno EPO v slovenskih tleh in do sedaj smo potrdili zastopanost 5 vrst: *Steinernema feltiae* (Filipjev) (rasa B30, B49, C76), *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (rasa C67, C101, C110, C119), *Steinernema kraussei* (Steiner) (rasa C46, C49), *Steinernema affine* (Bovien) (rasa A12) in *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) (rasa D54) (Laznik *et al.*, 2008 a, b). Preučevano raso v našem poskusu *S. feltiae* B30 smo izolirali v osrednjem delu Slovenije (območje Cerknice) in jo v preliminarnih poskusih uporabili pri preučevanju učinkovitosti zoper skladiščnega škodljivca *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera:Curculionidae) v laboratorijskih razmerah. Ko je omenjena vrsta pri nas tudi uradno postala domorodna vrsta (MAFF, 2008), smo se odločili, da jo preiskujemo tudi v prvem poljskem poskusu uporabe EPO v Sloveniji na prostem.

Poleg rase *S. feltiae* B30 smo v poskus foliarnega zatiranja koloradskega hrošča na prostem vključili tudi komercialni pripravek Entonem (Koppert B. V. Berkel en Rodenrijs, The Netherlands), katerega aktivna učinkovina je prav tako vrsta *S. feltiae* in sistemični insekticid Actara (aktivna snov tiametoksam) proizvajalca Syngenta. Cilj naše raziskave je bil: (1) preučiti učinkovitost domače rase *S. feltiae* B30 v primerjavi z komercialnim pripravkom Entonem ter insekticidom Actara zoper vse razvojne stadije koloradskega hrošča na prostem, (2) ugotoviti vpliv zatiranja koloradskega hrošča na pridelek, (3) vpliv koncentracije na učinkovitost zatiranja, (4) pomen dvojnega apliciranja z tako imenovano »split« metodo pri drugem tretiranju.

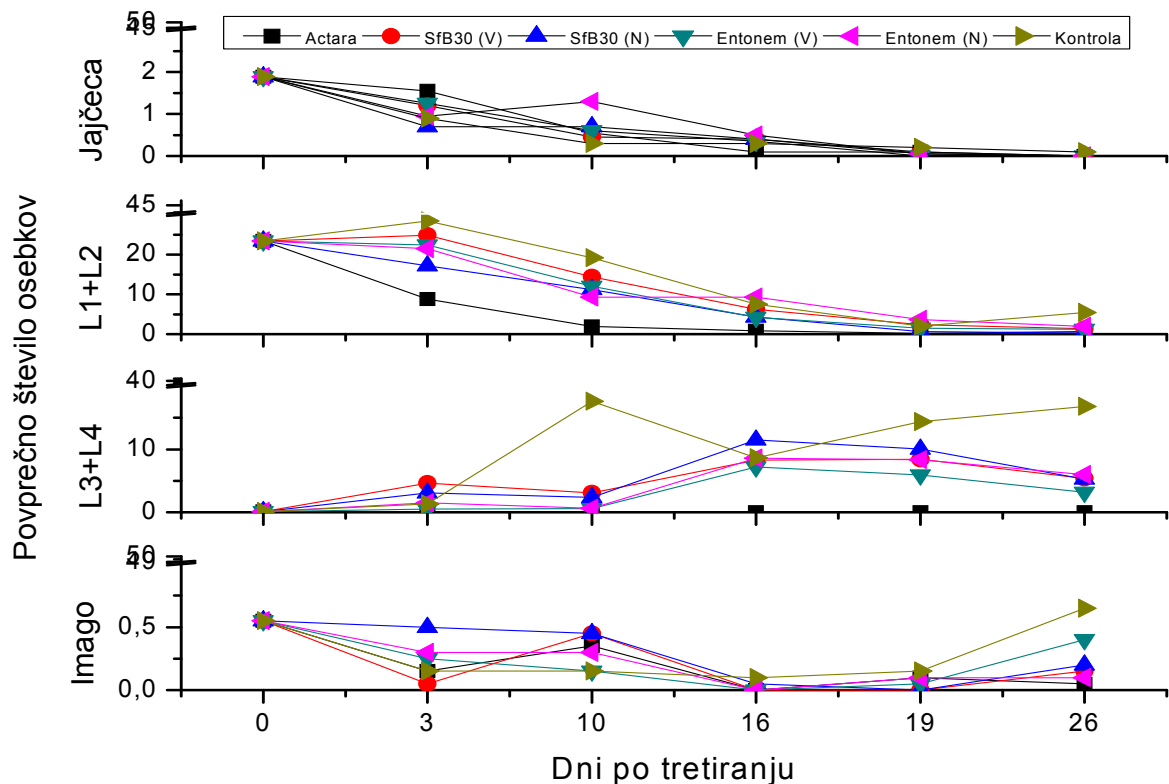
2 MATERIAL IN METODE DELA

S krompirjem sorte Kondor smo zasadili njivo (45 x 11 m) in jo razdelili na štiri bloke s po šestimi obravnavanji (kontrola, SfB30 nizka konc., SfB30 visoka konc., Entonem nizka konc., Entonem visoka konc. in Actara). Pripravek Entonem (Koppert B.V., Berkel en Rodenrijs, The Netherlands) smo naročili preko uvoznika Zeleni hit d.o.o. (Ljubljana, Slovenija), medtem ko smo slovensko raso *S. feltiae* B30 namnožili v posebnih bioreaktorjih na Madžarskem (Research and Extension Centre for Fruitgrowing). Prvo aplikacijo insekticida Actara (a.s.

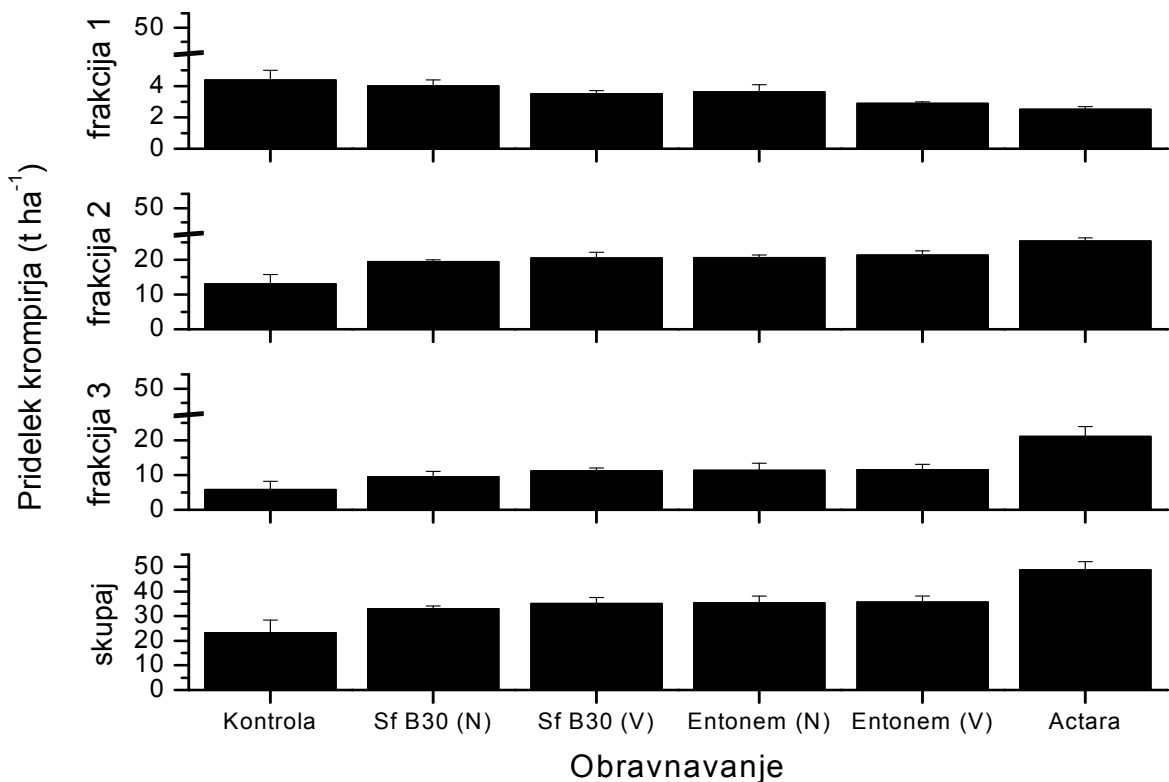
tiametoksam) ter EPO smo izvedli 10. 6. 2008. S predhodnjim opazovanjem rastlin smo ugotovili, da so se iz jajčec začele izlegati ličinke koloradskega hrošča. Škropljenje z EPO smo izvedli z ročno nahrbtno škropilnico z batno črpalko SOLO 425. Uporabili smo šobe z oznako 04F110, medtem ko je bil tlak škropljenja 2 bara. Odločili smo se za dve koncentraciji suspenzije ogorčic; nizka – 250.000 IJ/m² ter visoka – 500.000 IJ/m². Insekticid Actara smo tretirali v odmerku 60 g/ha. 26. 6. 2008 smo tretiranje z EPO in insekticidom Actara ponovili, vendar tokrat z polovično koncentracijo suspenzije ogorčic (125.000 IJ/m² in 250.000 IJ/m²). Pri obeh aplikacijah smo v suspenzijo EPO dodali 0.05 % of the surfactant Nu-Film-17 (a.s. di-1-p-methene, 96 %; manufacturer: Lances Links SA, Geneva, Switzerland; supplier: Karsia Dutovlje d.o.o., Ljubljana, Slovenia), s katerim smo dosegli večji oprijem kapljic na listno površje. Populacijsko dinamiko koloradskega hrošča smo spremljali 3, 10, 16, 19 in 26 DAT. Zaradi velike nevarnosti pojava krompirjeve plesni (*Phytophthora infestans*) smo tretirali krompir 26. 6. 2008 z fungicidom Melody duo (a.s. iprovalikarb-5.5 % in propineb-61.3 %). Škroplje z fungicidom smo ponovili 24. 7. 2008. 30.7.2008 smo škropili z herbicidom Basta (a.s. glufosinat-amonijeva sol – 15%), da smo posušili cimo krompirja. Krompir smo izkopal z gnanim izkopalnikom za krompir z dvema vrtečima se ploščama 12. 8. 2008. Razlike v populacijski dinamiki različnih stadijev koloradskega hrošča (jajčeca, L1-L2, L3-L4, imago) med posameznimi obravnavanji kot tudi razlike v masi pridelka smo analizirali z uporabo ANOVA. Vsa statistična analiza je bila opravljena s pomočjo računalniškega programa Statgraphics Plus for Windows 4.0 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc.). Statistično značilne razlike ($P \leq 0.05$) so bile identificirane z uporabo Student-Newman-Keuls's testom.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Rezultati naše raziskave so pokazali, da ta EPO *Steinernema feltiae* rasa B30 in komercialni pripravek Entonem (Koppert B. V. Berkel en Rodenrijs, The Netherlands) učinkovit biotični agens za foliarno zatiranje, predvsem larvalnih stadijev, koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata*) na prostem (slika 1). Nekatere laboratorijske raziskave so pokazale, da so odrasli osebkoli koloradskega hrošča neobčutljivi na delovanje EPO (Toba *et al.*, 1983), medtem ko smo v naši laboratorijski raziskavi ugotovili, da vrsta *S. feltiae* (Entonem) pri izjemno visoki koncentraciji suspenzije ogorčic (2000 IJ/adults) lahko povzroči tudi do 70 % smrtnost imagov. V sorodni raziskavi (Stewart *et al.*, 1998) poročajo, da so dosegli v laboratorijskih razmerah 100 % smrtnost različnih stadijev koloradskega hrošča, medtem ko je bil uspeh učinkovitosti delovanja EPO *S. carpocapsae* na prostem le 31 %. Welch in Briand (1961) poročata, da foliarna aplikacija EPO ni priporočljiva, saj prihaja do prehitrega izsuševanja suspenzije na listih in je s tem končna učinkovitost slabša. Ker je znašala relativna zračna vlaga med izvajanjem aplikacije v nočnih urah 66.7 % iščemo razlog za nižjo učinkovitost v temperaturi, saj je bila povprečna nočna temperatura v času prve aplikacije (10. junij) 14 °C, v času druge (26. junij) pa 16 °C. Sorodne raziskave so namreč pokazale, da je boljša učinkovitost delovanja EPO zoper imago nekaterih drugih vrst žuželk (*Phyllotreta undulata*), dosežena pri temperaturah med 20 in 25 °C (Trdan *et al.*, 2008). Na stadij jajčeca v poskusu EPO niso imele vpliva, medtem ko so EPO pokazale zadovoljivo učinkovitost na larvalne stadije, kar so pred nami ugotovili tudi številni drugi raziskovalci (Armer *et al.*, 2004). Rasa *S. feltiae* B30 se je pri visoki koncentraciji suspenzije ogorčic (500.000 IJ/m² pri prvi aplikaciji in 250.000 IJ/m² pri drugi aplikaciji) izkazala kot najbolj učinkovita pri zatiranju najmlajših stadijev ličink (L1 in L2), saj se je populacija zmanjšala iz 36 ličink/rastlino pred tretiranjem na samo 2 ličinki/rastlino ob koncu poskusa (slika 1), medtem ko se je število v kontrolnem obravnavanju zmanjšalo iz 18 na 5 ličink/rastlino. Rasa *S. feltiae* B30 in komercialni pripravek Entonem sta prav tako vplivala na populacijsko dinamiko starejših ličink (L3 in L4) v našem poskusu (slika 1). Statistična analiza je pokazala, da je bila slovenska rasa B30 celo boljša od komercialnega pripravka.



Slika 1: Populacijska dinamika različnih stadijev koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata*) pri različnih obravnavanjih v poskusu.



Slika 2: Pridelek krompirja pri različnih obravnavanjih (t/ha). V frakcijo 1 smo vključili gomolje krompirja, ki so manjši od 4 cm; v frakcijo 2 gomolje krompirja, ki so veliki od 4 do 5 cm; v frakciji 3 so gomolji krompirja, ki so večji od 5 cm.

Insekticid Actara je bil najboljši, saj na rastlinah nismo našli niti ene starejše ličinke, medtem ko smo pri rasi *S. feltiae* B30 (visoka koncentracija suspenzije ogorčic) ob koncu poskusa na rastlino našli v povprečju okoli 5 odraslih ličink/rastlino. Koncentracija suspenzije ogorčic na smrtnost razvojnih stadijev žuželke ni imela vpliva, kar je iz stališča ekonomičnosti rabe omenjenih biotičnih agensov v integriranem kmetijstvu dobro, saj so stroški varstva rastlin povezani s količino uporabljenih EPO. V povezavi s populacijskimi spremembami koloradskega hrošča v našem poskusu smo preučevali tudi vpliv na maso pridelka (slika 2). Ugotovili smo, da med posameznimi obravnavanji z EPO ni bilo razlik. Na pridelek tako tudi ni vplivala različna koncentracija suspenzije ogorčic. Pridelek na parcelah, velikih 20 m², tretiranih z EPO je bil v povprečju 34.71 kg (17.33 t/ha), medtem ko smo pri uporabi insekticida Actara dosegli pridelek 48.75 kg (24.37 t/ha). Na kontrolnih parcelah je bil pridelek najnižji in sicer le 23.12 kg (11.56 t/ha). Ključni dejavnik uspeha zatiranja škodljivih žuželk je tudi pravi čas apliciranja, saj so različni stadiji žuželk, kar smo ugotovili tudi v naši raziskavi, različno dovzetni za infekcijo z EPO.

4 SKLEPI

V naši raziskavi smo ugotovili, da so entomopatogene ogorčice učinkovit biotični agens za zatiranje larvalnih stadijev koloradskega hrošča na krompirju, medtem ko zadovoljivega delovanja nismo zasledili pri jajčecih in odraslih osebkih. Insekticid Actara je deloval najbolje. Koncentracija suspenzije ogorčic ni imela vpliva na smrtnost različnih stadijev koloradskega hrošča. Med posameznimi obravnavanji z EPO ni bilo razlik pri masi krompirja, so se pa obravnavanja razlikovala od kontrole in insekticida Actara. EPO je pri pravilni aplikaciji (nočni termin) in z nekaterimi dodatki (Nu-Film-17) lahko alternativa kemičnim sredstvom v varstvu krompirja pred koloradskim hroščem.

5 ZAHVALA

Za pomoč pri delu na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani se avtorji članka zahvaljujemo asist. dr. Mateju Vidrihu, mag. Filipu Vučajniku, Boštjanu Medvedu in vsem, ki so pomagali pri izkopu ter pobiranju krompirja. Rezultati pričujoče raziskave so nastali v okviru projekta CRP V4-0524, ki ga financirata Javna agencija za raziskovalno dejavnost RS in Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS ter Programa strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin za leto 2008, ki ga je financiralo Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS – Fitosanitarna uprava RS.

6 LITERATURA

- Armer, C.A., Berry, R.E., Reed, G.L., Jepsen, S.J. 2004. Colorado potato beetle control by application of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis marelata* and potato plant alkaloid manipulation. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 111: 47-58.
- Berry, R.E. 1998. *Insects and Mites of Economic Importance in the Northwest*, 2nd edn. Oregon State University, Corvallis, Oregon, 221p.
- Burnell A.M., Stock S.P. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts – lethal pathogens of insects. *Nematology*, 2: 31-42.
- Ferro, D.N., Logan, J.A., Voss, R.H., Elkinton, J. S. 1985. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) temperature-dependent growth and feeding rates. *Environmental Entomology*, 14: 343-348.
- Forgash, A.J. 1985. Insecticide Resistance in the Colorado potato beetle. *Massachusetts Agricultural Experiment Station Research Bulletin*, 704: 33-52.
- Forst S., Clarke D. 2002. Bacteria-nematode symbiosis. In: Gaugler R (ed) *Entomopathogenic Nematology*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 57-77.
- Hare, J.D. 1990. Ecology and management of the Colorado potato beetle. *Annual Review of Entomology*, 35: 81-100.

- Kaya H.K. 1990. Soil ecology. In: Gaugler R and Kaya HK (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, CRC Press, Florida, pp. 93-115.
- Laznik, Ž., Tóth, T., Lakatos, T., Trdan, S. 2008a. Entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) recorded for the first time in Slovenia. Acta Agric. Slov., 91, 1: 37-45.
- Laznik, Ž., Tóth, T., Lakatos, T., Trdan, S. 2008b. Entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida:Steinernematidae), a new member of Slovenian fauna. Acta Agric. Slov., 91, 2: 351-359.
- Ministry of Agriculture, Food, and Forestry of Republic Slovenia [MAFFa]. 2008: Decision on the change of the status of the exotic agent for biological control (no. 3430-9/2008/5): 2 p. [Slovenian]
- Stewart, J.G., Boiteau, G., Kimpinski, J. 1998. Management of late-season adults of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) with entomopathogenic nematodes. Canadian Entomologist, 130: 509-514.
- Toba, H.H., Lindegren, J.E., Turner, J.E., Vail, P.V. 1983. Susceptibility of the Colorado potato beetle and the sugarbeet wireworm to *Steinernema feltiae* and *S. glaseri*. Journal of Nematology, 15, 597-601.
- Trdan S., Vidrih M., Valič N. 2006. Activity of four entomopathogenic nematode species against young adults of *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) under laboratory conditions. J. Plant. Dis. Prot., 113: 168-173.
- Trdan S., Vidrih M., Valič N., Laznik Ž. 2008. Impact of entomopathogenic nematodes on adults of *Phyllotreta* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) under laboratory conditions. Acta Agric. Scand., B Soil Plant. Sci., 58: 169-175.
- Welch, H.E., Briand, L.J. 1961. Tests of the nematode DD136 and an associated bacterium for control of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). The Canadian Entomologist 93, 759-763.
- Whalon, M.E., Miller, D.L., Hollingworth, R.M., Grafius, E.J., Miller, J.R. (1993): Selection of a Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) strain resistant to *Bacillus thuringiensis*. Journal of Economic Entomology, 86: 226-233.

RAZVOJ METODE PCR V REALNEM ČASU ZA DOLOČANJE BAKTERIJE *ERWINIA AMYLOVORA* IN NJENA UPORABA V DIAGNOSTIKI

Manca PIRC¹, Tanja DREO², Maja RAVNIKAR³

^{1,2,3}Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo,
Ljubljana

IZVLEČEK

Detekcija bakterije *Erwinia amylovora* v simptomatičnih vzorcih je relativno enostavna, saj je bakterij navadno veliko in dobro rastejo na umetnih gojiščih. Težave lahko imamo pri vzorcih, kjer je okužba močno napredovala in je tkivo zelo propadlo, pri vzorcih tretiranih s fitofarmaceutskimi sredstvi, ki motijo teste in pri vzorcih, ki ne kažejo znamenj bolezni in vsebujejo nizke koncentracije bakterij (prikrite ali latentne okužbe). Metoda, ki je zelo občutljiva, ter hkrati specifična in omogoča analizo težavnejših vzorcev je PCR v realnem času. Večina obstoječih molekularno-bioloških testov za detekcijo *Erwinia amylovora*, temelji na določanju plazmida pEA29, ki ga pa ni v vseh bakterijah v naravi. Bakterij brez plazmida tako ne zaznamo, kljub temu, da so še vedno sposobne povzročati bolezenska znamenja. Za zaznavanje vseh bakterij *Erwinia amylovora* ne glede na njihov plazmidni profil smo razvili PCR v realnem času s tarčo na kromosomski DNA. V povezavi z avtomatizirano izolacijo DNA lahko v vzorcih z izraženimi znamenji bolezni zanesljivo zaznamo vsaj 10^3 celic mL^{-1} (≈ 4 celice na reakcijo). Pri analiziranju vzorcev na prikrto okužbo nam PCR v realnem času omogoča kvantifikacijo bakterije pred obogatitvijo in po njej v splošnem in selektivnem gojišču. Na ta način ugotavljamo živost *E. amylovora*, tudi kadar bakterij po obogatitvi na gojišču ne moremo izolirati v čisti kulturi.

Ključne besede: *Erwinia amylovora*, hrušev ožig, PCR v realnem času, latentna okužba

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF REAL-TIME PCR FOR DETECTION OF *ERWINIA AMYLOVORA* AND ITS USE IN DIAGNOSTICS

Detection of *Erwinia amylovora* in symptomatic samples is usually straightforward as bacteria are present in large numbers and grow well on artificial media. Reliable diagnosis, however, can be difficult when bacteria are hindered in their growth on artificial media or their numbers are low due to abundant tissue necrosis, samples treated with pesticides or bactericidal compounds, and symptomless samples. For such samples there is a need for a sensitive method of detection i.e. real-time PCR. Existing real-time PCR systems for detection of *E. amylovora* target pEA29 which is relatively stable but is not present in all pathogenic isolates in nature. We have developed real-time PCR systems targeting chromosomal DNA that enables specific detection of all *E. amylovora* regardless of their plasmid profile. Combined with an automated DNA extraction method the real-time PCR assays reliably detected at least 10^3 cells mL^{-1} of the pathogen from blighted woody plant material (≈ 4 cells per reaction). In testing of symptomless samples, absolute quantification of *E. amylovora* before

¹ univ. dipl. biol., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana, e-mail: manca.pirc@nib.si

² dr. biol. znan., prav tam

³ prof. dr. biol. znan., prav tam

and after enrichment in liquid media provided proof of *E. amylovora* viability and ability to multiply also in cases when subsequent isolation in pure culture was not possible.

Key words: *Erwinia amylovora*, fire blight, real time – PCR, latent infection

1 UVOD

Erwinia amylovora (Burill) Winslow *et al.* je bakterija, ki povzroča bolezen hrušev ožig. Bakterija je patogena za rastline iz družine rožnic (*Rosaceae*) kjer okužuje približno 200 različnih vrst v 40-ih rodovih. Najpogosteje omenjeni rodovi so: *Malus*, *Pyrus*, *Crataegus*, *Chaenomeles*, *Cotoneaster* in *Cydonia*. Bakterija je uvrščena na II.A.II seznam škodljivih organizmov v EU in Sloveniji. Vsako leto se pri nas vrši uradni nadzor hruševega ožiga, ki ga vodi Fitosanitarna uprava Republike Slovenije. Gre za zdravstvene preglede gostiteljskih rastlin v skladu s Pravilnikom o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranja hruševega ožiga (Uradni list RS, št. 18/04, 44/04, 21/05 in 21/07). Testiranje vzorcev na bakterijo *E. amylovora* poteka v skladu s EPPO diagnostičnimi protokoli (EPPO, 1992, 2004). Pri določanju novejših molekularno – bioloških metode (PCR, vgnezdni PCR in PCR v realnem času) dopolnjujejo starejše serološke metode (ELISA, IF). Tako smo tudi v letu 2006 v našem laboratoriju uvedli metodo PCR v realnem času s setom oligonukleotidnih začetnikov in sondo s tarčo na plazmidu pEA29, ki sta jih razvila Salm in Geider (2004). Prednost metode PCR v realnem času pred klasično metodo PCR je v hitrosti izvedbe, zmanjšanju možnosti navzkrižne kontaminacije med vzorci, navadno je bolj specifična in bolj občutljiva. Pomankljivost že razvite metode PCR v realnem času (Salm in Geider, 2004) je v tem, da oligonukleotidni začetniki nalegajo na specifični del sekvence plazmida pEA29, ki ga pa ni v vseh patogenih sevih bakterije *E. amylovora* (Llop *et al.*, 2006). S testom tako ne zaznamo vseh sevov *E. amylovora*. Teh sevov v naravi po znanih podatkih ni veliko, so pa jih našli na različnih geografskih območjih (Llop *et al.*, 2008), zato smo za določanje vseh sevov *E. amylovora* razvili dva seta oligonukleotidnih začetnikov in sond na specifičnem delu kromosoma bakterije *E. amylovora*. En sistem smo razvili na delu gena ki je pomemben za sintezo amilovorana, polisaharida, ki je zelo pomemben pri patogenosti bakterije in drugega na ITS regiji, ki se zaradi velike raznolikosti med sorodnimi bakterijami velikokrat uporablja za razvoj molekularnih metod (Li in DeBoer, 1995; Pastrik *et al.*, 2002). Specifičnost in občutljivost metode PCR v realnem času s tarčo na kromosomski DNA je opisana v Pirc *et al.* (2009, v tisku). V nadaljevanju bomo prikazali primerjavo občutljivosti nove metode z uveljavljeno metodo vgnezdene PCR reakcije (Llop *et al.*, 2000).

2 MATERIAL IN METODE

2.1. Rastlinski material

Izbrali smo 8 rastlinskih ekstraktov iz simptomatičnih vzorcev različnih gostiteljskih rastlin (jablana, hruška, panešplja, kutina, nešplja, skorš, glog in ognjeni trn). Ekstrakti so bili predhodno testirani s standardnimi metodami na bakterijo *E. amylovora* in so bili negativni. Vsak ekstrakt smo razdelili 3 x po 90 μ l in dodali 10 μ l suspenzije bakterije *E. amylovora* v različnih koncentracijah. Končne koncentracije bakterije *E. amylovora* v pripravljenih vzorcih so bile $1,8 \times 10^4$, $1,8 \times 10^3$ in $1,8 \times 10^2$ celic *E. amylovora* mL⁻¹ rastlinskega ekstrakta.

2.2 Izolacija DNA

Iz ekstraktov z dodano bakterijo *E. amylovora* smo izolirali DNA z uporabo QuickPick™ SML Plant DNA kita (Bio-Nobile) in KingFisher^R mL sistema (Thermo LabSystem; Pirc *et al.*, 2009, v tisku).

2.3 Vgnezdena PCR reakcija

Vgnezdeno reakcijo smo izvajali kot je opisano v Llop *et al.*, (2000). PCR produkte smo analizirali na 1,5 % agaroznem gelu obarvanem z etidijevim bromidom. Vgnezdeno reakcijo smo za vse vzorce ponovili najmanj dvakrat.

2.3 PCR v realnem času

Sekvence začetnih oligonukleotidov, sonde, reakcijska mešanica ter pogoji pomnoževanja so opisani v Pirc *et al.* (2009, v tisku) ter Salm in Geider (2004). Po 8 μ l pripravljene reakcijske mešanice smo nanесли na optično ploščico (Applied Biosystems) in v vsako reakcijsko mešanico dodali 2 μ l izolirane DNA. Vsak vzorec smo na ploščico nanесли v treh ponovitvah. Ploščico smo pokrili z lepljivo folijo, centrifugirali in jo vstavili v detektor ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems). PCR v realnem času smo analizirali z računalniškim programom SDS 2.2.2. (Applied Biosystems).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Z metodo PCR v realnem času smo ne glede na uporabljen sistem zanesljivo zaznali bakterijo *E. amylovora* v vseh ekstraktih s koncentracijami $1,8 \times 10^4$ in $1,8 \times 10^3$ celic mL^{-1} .

Koncentracija (celic mL^{-1})	Gostiteljska rastlina	PCR v realnem času			vgnezdeni PCR
		Ams	ITS	pEA29	
$1,8 \times 10^4$	Jablana	+	+	+	+
	Hruška	+	+	+	+
	Panešplja	+	+	+	+
	Kutina	+	+	+	-
	Nešplja	+	+	+	+
	Skorš	+	+	+	+
	Glog	+	+	+	-
	Ognjeni trn	+	+	+	+
$1,8 \times 10^3$	Jablana	+	+	+	+
	Hruška	+	+	+	+
	Panešplja	+	+	+	-
	Kutina	+	+	+	-
	Nešplja	+	+	+	-
	Skorš	+	+	+	-
	Glog	+	+	+	+
	Ognjeni trn	+	+	+	+
$1,8 \times 10^2$	Jablana	-	+	-	-
	Hruška	+	+	-	-
	Panešplja	-	+	+	-
	Kutina	-	+	+	-
	Nešplja	-	-	-	-
	Skorš	-	+	-	-
	Glog	-	+	-	-
	Ognjeni trn	-	+	+	-

Preglednica 1: Primerjava treh sistemov PCR v realnem času in vgnezdene PCR reakcije pri določanju bakterije *E. amylovora* v ekstraktih z dodano bakterijo v koncentraciji $1,8 \times 10^4 - 1,8 \times 10^2$ celic mL^{-1} . + (pozitiven končni rezultat) pomeni, da smo v vsaj 50% zabeležili pozitiven rezultat med ponovitvami in - (negativen končni rezultat), če smo pozitiven rezultat zabeležili v manj kot 50% ponovitev.

V nasprotju pa smo z metodo vgnezdene PCR reakcije zaznali *E. amylovora* pri 75% ekstraktov s koncentracijo $1,8 \times 10^4$ *E. amylovora* celic mL^{-1} (6 pozitivnih/8 testiranih) in le pri 50 % ekstraktov s koncentracijo $1,8 \times 10^3$ *E. amylovora* celic mL^{-1} (4 pozitivni/8 testiranih; preglednica 1). Pri ekstraktih s koncentracijo *E. amylovora* $1,8 \times 10^2$ celic mL^{-1} z vgnezdene PCR reakcijo nismo dobili pozitivnega rezultata. V istih vzorcih smo z metodo PCR v realnem času dobili pozitiven rezultat v 88 % ekstraktov z ITS sistemom (7 pozitivnih/8 testiranih), medtem ko sta procenta uspešnosti določevanja pri Ams in pEA29 sistemu precej nižja (Ams – 13 % (1 pozitiven/8 testiranih) ; pEA29 – 38 % (3 pozitivni/8 testiranih)). Večja občutljivost sistema ITS sistema v primerjavi s sistemom Ams je posledica pojava tarčnega zaporedja v večjem številu kopij na genomu.

4 SKLEPI

Kot smo pokazali v Pirc *et al.* (2009, v tisku) je uvedena metoda specifična, s poskusom opisanem v tem prispevku, kjer smo jo primerjali z metodo vgnezdene PCR reakcije (Llop *et al.*, 2000) pa smo potrdili njeno boljšo občutljivost in zanesljivost. S specifičnim pomnoževanjem tarčnega zaporedja na kromosomu omogoča tudi zaznavanje sevov *E. amylovora* brez plazmida pEA29. Dodatne prednosti: z razvojem različnih sistemov s katerimi pomnožujemo različne dele genoma bakterije *E. amylovora* zmanjšamo možnost navzkrižnih reakcij in s tem lažno pozitivnih rezultatov. Uporabljamo jo lahko tako pri problematičnih simptomatičnih vzorcih kot tudi pri testiranju latentnih vzorcev. Metoda je ustrezna tudi za določanje *E. amylovora* v cvetovih.

5 ZAHVALA

Projekt je bil sofinanciran s strani Fitosanitarne uprave RS, Agencije za raziskovalno dejavnost in Slovenske tehnološke agencije (TIA-MISIS). Zahvaljujemo se fitosanitarnim inšpektorjem Fitosanitarne inšpekcije RS, ter drugim strokovnjakom s področja varstva rastlin za nabrane vzorce ter Lidiji Maticič, Alešu Blatniku in Špeli Prijatelj Novak za pomoč pri izvedbi laboratorijskih testov.

6 LITERATURA

- EPPO (European Plant Protection Organization), 1992. EPPO Standards PM 3/40 *Erwinia amylovora*. Sampling and test methods. EPPO Bulletin 22, 225-231.
- EPPO (European Plant Protection Organization), 2004. Diagnostic protocols for regulated pests PM 7/20, *Erwinia amylovora*. EPPO Bulletin 34, 159-171.
- Li, X., DeBoer, S.H., 1995. Selection of polymerase chain reaction primers from an RNA intergenic spacer region for specific detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Phytopathology 85, 837–842.
- Llop, P., Bonaterra, A., Peñalver, J., and López, M.M., 2000. Development of a highly sensitive nested-PCR procedure using a single closed tube for detection of *Erwinia amylovora* in symptomless plant material. Applied and Environmental Microbiology 66, 2071-2078.
- Llop, P., Donat, V., Rodriguez, M., Cabrefiga, J., Ruz, L., Palomo, J.L., Montesinos, E., Lopez, M.M. 2006 . An Indigenous Virulent Strain of *Erwinia amylovora* Lacking the Ubiquitous Plasmid pEA29. Phytopathology, 96 (8); 900 – 907
- Llop, P., López, M.M., Cabrefiga, J., Ruz, L., Montesinos, E., 2008. Study of the virulence in wild-type strains of *Erwinia amylovora* devoid of the plasmid pEA29. Acta Horticulturae 793, 145-148.
- Pastrik, K.H., Elphinstone, J.G., Pukall, R., 2002. Sequence analysis and detection of *Ralstonia solanacearum* by multiplex PCR amplification of 16S-23S ribosomal intergenic spacer region with internal positive control. European Journal of Plant Pathology 108, 831-842.
- Pirc, M., Ravnikar, M., Tomlinson, J., Dreo, T., Improved fire blight diagnostics using quantitative real-time PCR detection of chromosomal DNA. Plant Pathology. (sprejeto v publikacijo januarja 2009)
- Salm, H., in Geider, K. 2004. Real – time PCR for detection and quantification of *Erwinia amylovora*, the causal agent of fireblight. Plant Pathology, 53. 602 – 610

LABORATORIJSKE METODE DOLOČANJA BAKTERIJE *XYLELLA FASTIDIOSA* V VZORCIH VINSKE TRTE

Jana SKUBIC¹, Maja RAVNIKAR², Gabrijel SELJAK³, Tanja DREO⁴

^{1,2,4}Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo,
Ljubljana

³Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica

IZVLEČEK

Bakterija *Xylella fastidiosa* Wells *et al.* 1987 je povzročiteljica Piercove bolezni vinske trte ter drugih gospodarsko pomembnih bolezni rastlin. Bolezen razširjajo sesajoče žuželke, ki se hranijo z rastlinskim sokom in je zelo razširjena v ZDA, v Evropi pa je še ni. Bakterija je zato uvrščena na I.A.I seznam škodljivih organizmov. Bakterijo *X. fastidiosa* je navadno težko izolirati iz rastlinskega tkiva, zato je pomembno, da imamo na voljo dovolj občutljivo metodo, ki bo zaznala nizke koncentracije bakterij v vzorcu. Naš namen je bil vpeljati različne metode določanja te bakterije, in sicer gojenje bakterije *X. fastidiosa*, na gojiščih, imunofluorescenčni test (IF) in ELISA test.

Ključne besede: Piercova bolezen, ELISA, vinska trta, *Xylella fastidiosa*

ABSTRACT

METHODS FOR DETECTING *XYLELLA FASTIDIOSA* IN VINE SAMPLES

Xylella fastidiosa Wells *et al.* 1987 is a causal agent of Pierce's disease on grape (PD) and many other economically important plant diseases. The disease is spread by sap-feeding insect vectors and in many areas in the United States the disease is endemic; however, it is not yet present in Europe. The pathogen is therefore included in the I.A.I list of harmful organisms. Since isolation of the pathogen is difficult even from symptomatic samples, a reliable detection method of the pathogen is essential for monitoring the presence and spread of the disease. Our objective was to implement classical and serological methods for detecting *Xylella fastidiosa* in our laboratory.

Key words: Pierce's disease, ELISA, grapevine, *Xylella fastidiosa*

1 UVOD

Bakterija *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*, 1987) je majhna (0,2-0,4 µm x 1,0-4,0 µm), po Gramu negativna, aerobna bakterija. Povzroča Piercovo bolezen vinske trte in še nekatere druge bolezni na različnih gostiteljskih rastlinah. Bolezenska znamenja, ki jih povzroča so prvič opazili leta 1892 v vinogradih v južni Kaliforniji. Sprva so mislili, da bolezen povzročajo virusi, dokler niso s Kochovimi postulati potrdili, da gre za bakterijsko okužbo. *X. fastidiosa* lahko okuži več kot 100 rastlinskih vrst iz vsaj 46 rastlinskih družin. V rastlinah je bakterija omejena na ksilem. *X. fastidiosa* lahko povzroča veliko gospodarsko škodo na

¹ univ. dipl. mikrobiol., Večna pot 111, SI-1111 Ljubljana

² prof. dr., prav tam

³ mag. agr. znan., prav tam

⁴ dr. biol. znan., prav tam

rastlinah kot so vinska trta, agrumi in nekatere druge drevesne vrste (Hopkins and Purcell, 2002).

Bolezni, ki jih povzroča se večinoma pojavljajo v toplejših predelih Severne (vinska trta) in Južne Amerike (agrumi), o bolezni na hruškah poročajo s Taiwana, pojavljajo pa se tudi osamljeni primeri okužb, kot na primer okužba vinske trte na Kosovu in mandljev v Indiji (EPPO/OEPP, 2004). Po poročanju organizacij za varstvo rastlin v Evropi boleznini ni, zato bakterijo *X. fastidiosa* kot tudi njene prenašalce uvrščamo na seznam I.A.I škodljivih organizmov.

Bolezni, ki jih povzroča bakterija *X. fastidiosa* prenašajo nekatere vrste ksilofagnih škrtatkov kot so: *Carneocephala fulgida*, *Homalodisca vitripennis*, *Graphocephala atropunctata* (Hewitt *et al.*, 1964). Bolezenska znamenja se pri vinski trti navadno ne pojavijo na rastlinah mlajših kot eno leto. Znamenja bolezni največkrat opazimo pozneje v sezoni, ko so temperature višje, rastline pa imajo manj vode. Kažejo se v obliki kloroz in nekroz listov, ki se z napredovanjem bolezni popolnoma posušijo, vendar ne odpadejo. Močno okužene rastline lahko odmrejo v letu ali dveh (Hopkins, 1981). Bolezenska znamenja težko ločimo od tistih, ki so posledica glivnih okužb, škropljenja s herbicidi ali suše, kar pogosto oteži identifikacijo bolezni na terenu. Redni pregledi rastlin, vzorčenje in laboratorijska diagnostika, so zato bistveni za zgodnje odkrivanje bolezni.

Bakterija *X. fastidiosa* je počasi rastoča bakterija, prve kolonije se na selektivnih gojiščih pojavijo po desetih do štirinajstih dneh (Campanharo *et al.*, 2002). Ker bakterijo navadno težko izoliramo iz rastlinskega tkiva, je zelo pomembno, da imamo na voljo drugo dovolj občutljivo metodo, ki bo zaznala nizke koncentracije bakterij v tkivu. Najpogosteje se za detekcijo bakterije uporablja test ELISA (ang. Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), test imunofluorescence ali molekularne metode (Schaad *et al.*, 2002; Francis *et al.* 2006).

Naš namen je bil vpeljati različne metode določanja te bakterije, in sicer gojenje bakterije *X. fastidiosa* na gojiščih, imunofluorescenčni test (IF) in ELISA test.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Bakterijski sevi in gojišča

Kontrolni sevi bakterije *X. fastidiosa* ATTC 35879T, 2683 PCE-RR (ICPB 50025), ATTC Peach 4#5 (ICPB 50032) in ATTC 35871, PL788, 2679 PLM G83 (ICPB 50039), ATTC 93-1F (ICPB 50047), ki smo jih uporabili v naših testih so sevi izolirani iz vinske trte, slive in breskve, ki smo jih dobili iz zbirke ATTC (ang. »American Type Culture Collection«). Za gojenje smo uporabili tekoči in trdni gojišči PD2 in PW (Schaad *et al.*, 2000), po inokulaciji smo gojišča inkubirali vsaj 3 tedne pri temperaturi 28 °C. Po končani inkubaciji smo bakterije prenesli na sveža gojišča. Najbolje rastoči sev (ICPB 50032) smo izbrali kot kontrolni sev za nadaljnje testiranje.

2.2 Test indirektne imunofluorescence (IIF)

Kontrolne seve *X. fastidiosa* smo opazovali s fluorescentno mikroskopijo (oznaka mikroskopa Axioskop 2 Plus, Nikon) s testom IIF. Na stekelca smo nanесли 25 µL čiste bakterijske suspenzije, koncentracijo smo umerili na 10⁶ cfu/mL po McFarland standardu in fiksirali na vroči plošči 20 minut pri 60 °C. Za detekcijo smo uporabili poliklonska protitelesa proizvajalca Loewe (Lot No.220601) in sekundarna protitelesa proizvajalca Sigma (Lot No. 065K6224), označena s FITC.

2.3 Detekcija *Xylella fastidiosa* z ELISA testom

2.3.1 Priprava rastlinskega materiala

V petih slovenskih vinogradih smo vzorčili vinske trte sort Chardonnay, Šentlovrenka, Kerner in Tokaj. Zbrali smo 19 vzorcev iz katerih smo pripravili ekstrakte na več načinov. Pri prvem smo izrezovali listno ploskev skupaj z listnimi žilami, tkivo inkubirali 20 minut v ekstrakcijskem pufru in ekstrakt nato prestavili v novo mikrocentrifugirko. Pri drugem načinu smo izrezali listne žile in liste peclje ter tkivo macerirali. Pri tretjem načinu pa smo iz enoletnih poganjkov ekstrahirali vsebino žilnega sistema tako, da smo prek cevke pritrjene na poganjek posrkali ekstrakcijski pufer v katerega je bil namočen drugi del poganjka. V vse ekstrakte smo dodali glicerol in jih shranili pri -80°C do uporabe.

Z ELISA testom smo spremljali tudi vpliv tipa rastlinskega tkiva na detekcijo bakterije ter potencialno navzkrižno reaktivnost protiteles z rastlinskim tkivom. V ta namen smo pripravili ekstrakte *Catharanthus roseus* in *Nicotiana tabacum* tako, da smo 1 g rastlinskega tkiva macerirali v 10 mL ekstrakcijskega pufra, večje delce centrifugirali 3 min pri 3000 g in približno 4-5 mL supernatanta prenesli v novo centrifugirko. Vzorec smo nato centrifugirali 20 minut pri 7000 g, zavrgli supernatant in pelet resuspendirali v 4-5 mL ekstrakcijskega pufra.

2.3.2 Priprava bakterijskih suspenzij in izvedba ELISA testa

Suspenzijo pozitivne kontrole *X. fastidiosa* smo pripravili v koncentracijah od 10^6 cfu/mL do 10^1 cfu/mL v ekstrakcijskem pufru, ekstraktih vinske trte, ekstraktu *Catharanthus roseus* in ekstraktu *Nicotiana tabacum*. Navzkrižno reaktivnost protiteles smo preverjali tudi z nekaterimi patogenimi bakterijami vinske trte, in sicer *Agrobacterium tumefaciens*, *A. vitis* in *A. rhizogenes* tako, da smo pripravili suspenzijo čiste kulture 10^6 - 10^7 cfu/mL ter fitoplazmami Bois Noir (BN), Flavescence dorée (FD) in Aster Yellows (AY), ki smo jih ekstrahirali iz okuženih kontrolnih rastlin. Za negativno kontrolo smo uporabili ekstrakcijski pufer.

Za detekcijo *X. fastidiosa* smo uporabili protokol in set reagentov DAS ELISA (Agdia, Inc., Indiana, ZDA). V ELISA ploščico smo nanесли 100 μL posameznega vzorca v dveh paralelkah in pri izvedbi testa sledili protokolu proizvajalca.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Bakterijski sevi in gojišča ter test indirektne imunofluorescence (IIF)

Vse bakterijske seve smo uspešno gojili v tekočih PD2 in PW gojiščih, manj uspešno pa je bilo gojenje na trdnih gojiščih. V nasprotju s trdnim gojiščem, pa v tekočem gojišču s stresanjem zagotavljamo enakomerno razporeditev hranil ter kisika, kar pozitivno vpliva na razmnoževanje bakterij, ne glede na začetno koncentracijo.

Bakterijske celice kontrolnih sevov smo uspešno opazovali pod mikroskopom s testom IIF. Celice so bile značilne ozke in podolgovate oblike in so dobro fluorescirale.

3.2 Detekcija *Xylella fastidiosa* z ELISA testom

Rezultate ELISA testa smo odčitali s spektrofotometrom pri 690 nm. Pri pozitivnih vzorcih smo zaznali močno barvno reakcijo. Z ELISA testom smo glede na pripravljeno umeritveno krivuljo v pozitivnih kontrolah določili koncentracijo najmanj 10^5 do 10^6 celic/mL, ne glede na to ali smo določali bakterije suspendirane v pufru ali mešane z ekstrakti vinske trte (ekstrakt listov, ekstrakt pecljev in žil ter vsebina žilnega sistema) oziroma ekstraktoma *C. roseus* in *N. tabacum*. Na podlagi tega smo zaključili, da način ekstrakcije ali tip tkiva ne vpliva na mejo detekcije ELISA testa. Protitelesa niso kazala navzkrižne reaktivnosti z

nobeno od testiranih bakterij iz rodu *Agrobacterium* kot tudi ne s fitoplazmami in rastlinskim tkivom *C. roseus* in *N. tabacum*.

Vpeljava PCR v realnem času kot presejalnega testa in vzpostavitev celotne sheme testiranja za detekcijo *X. fastidiosa* je v pripravi. Uvedene metode bomo uporabili na rastlinah vinske trte s sumljivimi bolezenskimi znamenji.

4 SKLEPI

- Bakterijo *Xylella fastidiosa* smo uspešno gojili v čisti kulturi v tekočem gojišču ter jo opazovali pod mikroskopom s testom indirektna imunofluorescence
- ELISA test za detekcijo *Xylella fastidiosa* je specifičen, saj protitelesa niso navzkrižno reagirala z nobeno od testiranih patogenih bakterij vinske trte, kot tudi ne z rastlinskim tkivom. Občutljivost testa je približno 10^5 do 10^6 celic/mL. Občutljivost ELISA testa se ni razlikovala glede na tip rastlinskega tkiva oziroma ekstrakta v katerem smo bakterijo določali.

5 ZAHVALA

Raziskave so bile sofinancirane preko projekta CRP (V4-0313). Iskreno se zahvaljujemo dr. Normanu W. Schaadu (United States Department of Agriculture) za pomoč pri izbiri sevov ter prispevane bakterijske seve bakterije *Xylella fastidiosa*, dr. Magdi Tušek Žnidaršič in mag. Nataši Mehle (Nacionalni inštitut za biologijo) za svetovanje pri izvedbi in interpretaciji ELISA testa in Alešu Blatniku (Nacionalni inštitut za biologijo) za pomoč pri izvedbi in analizi testa indirektna imunofluorescence.

6 LITERATURA

- Campanharo, J. C., Lemos, M. V. F., Lemos, E. 2002. Growth optimization procedures for the phytopathogen *Xylella fastidiosa*. *Current Microbiology*, 46: 99-102
- Carbajal, D., Morano, K. A., Morano, L. D. 2004. Indirect immunofluorescence microscopy for direct detection of *Xylella fastidiosa* in xylem sap. *Current Microbiology*, 49: 372-375
- Council Directive 2000/29/EC of 8 May 2000 on protective measures against the introduction into the Community of organisms harmful to plants or plant products and against their spread within the Community (L169/1,10/07/2000)
- Direktiva sveta 2000/29/ES (UL L 169, 10.07.2000) z dne 8. maja 2000 o varstvenih ukrepih proti vnosu organizmov, škodljivih za rastline ali rastlinske proizvode, v Skupnost in proti njihovemu širjenju v Skupnost
- Francis, M., Lin, H., Rosa, J C-L., Doddapaneni, H., Civerolo, E. L. 2006. Genome-based PCR primers for specific and sensitive detection and quantification of *Xylella fastidiosa*. *European J. of Plant Pathology*, 115:203-213
- Francis, M., Civerolo, E. L., Bruening, G. 2008. Improved bioassay of *Xylella fastidiosa* using *Nicotiana tabacum* cultivar SR1. *Plant. Dis.*, 92, 1: 14-20
- Hewitt, W. B., Frazier, N.W., Freitag, J. H. 1942. Transmission of Pierce's disease of grapevines with a leafhopper. (Abstr.) *Phytopathology* 32:8
- Hopkins, D. L. 1981. Seasonal concentration of Pierce's disease bacterium in grapevine stems, petioles and leaf veins. *Phytopathology* 71:415-418
- Hopkins, D. L., Purcell, A. H. 2002. *Xylella fastidiosa*: cause of Pierce's disease of grapevine and other emergent diseases. *Plant Dis.* 86, 1056-1066
- Normes OEPP/EPPO Standards. 2004. Diagnostic protocols for regulated pests, *Xylella fastidiosa*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 34: 187-19
- Pravilnik o ukrepih in postopkih za preprečevanje vnosa in širjenja škodljivih organizmov rastlin, rastlinskih proizvodov in nadzorovanih predmetov (Uradni list RS, št. 31/04, 142/04 in 66/07)
- Schaad, N. W., Ogenorth, D., Gauth, P. 2002. Real-time polymerase chain reaction for one-hour on-site diagnosis of Pierce's disease of grape in early season asymptomatic vines. *Phytopathology*, 92, 7: 721-728

- Schaad, N. W., Jones, J. B., Chun, W. 2000. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria, 3rd ed., 373p
- Schaad, N. W., Postnikova, E., Lacy, G., Fatmi, M., Chang, C-J. 2004. *Xylella fastidiosa* subspecies: *X. fastidiosa* subsp. *piercei*, subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. *multiplex*, subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. *pauca*, subsp. nov. System. Appl. Microbiol. 27, 290-300
- Smart, C. D., Hendson, M., Guilhaert, M. R., Saunders, S., Friebertshouser, G., Purcell, A., Kirkpatrick, B. C. 1998. Seasonal detection of *Xylella fastidiosa* in grapevines with culture, ELISA and PCR. (Abstr.) Phytopathology 88(suppl.):S83
- Wells, J. M., Raju, B. C., Hung, H. Y., Weisburg, W. G., Mandeico-Paul, L., Brenner, D. J. 1987. *Xylella fastidiosa* gen. Nov., sp. Nov.: Gram-negative, xylem-limited, fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. Int. J. Syst. Bacteriol. 37, 136-143

SPREMLJANJE BAKTERIJ IZ RODU *AGROBACTERIUM* NA VINSKI TRTI V LETIH 2006 IN 2007

Igor ZIDARIČ¹

Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

Rak koreninskega vratu vinske trte povzročajo bakterije iz rodu *Agrobacterium* od katerih je najbolj razširjena bakterija *Agrobacterium vitis*. Bolezen je v Slovenskih vinogradih v manjšem obsegu razširjena že desetletja in ni povzročala večje škode. Zadnjih nekaj stresnih situacij kot je zimska pozeba je povzročilo pojav bolezenskih znamenj in odmiranje trte v povečanem obsegu. Prav tako je z odprtjem trga vse težje nadzirati kakovost in zdravstveno stanje sadilnega materiala. Bolezen se najhitreje širi prav z okuženimi rastlinami. Agrobakterije med rastlinskimi škodljivimi organizmi uvrščamo v kategorijo nadzorovanih nekarantenskih organizmov, ki so pod uradnim fitosanitarnim nadzorom v pridelavi in trženju sadilnega materiala vinske trte. Zaradi večjega pojava bolezenskih znamenj v vinogradih in trsnicah v zadnjih letih, se je FURS odločila za uvedbo dvoletnega posebnega programa, ki smo ga izvedli v letih 2006 in 2007. Program je obsegal vizualna opazovanja, odvzem vzorcev in laboratorijsko določitev povzročitelja. V okviru programa so bili odvzeti in analizirani 203 vzorci, od katerih smo v 161 primerih potrdili agrobakterije. Bakterije smo izoliralirali iz bazičnega, certificiranega in standardnega sadilnega materiala. Prav tako smo bakterije potrdili v matičnih rastlinah.

Ključne besede: *Agrobacterium* spp., vinska trta, vzorčenje, laboratorijsko določevanje

ABSTRACT

MONITORING OF BACTERIA OF THE GENUS *AGROBACTERIUM* ON GRAPEVINE IN 2006 AND 2007

Grapevine crown gall is caused by bacteria of the genus *Agrobacterium* among which the bacterium *Agrobacterium vitis* is the most widely spread. The disease has been present in the Slovene vineyards to a lesser extent for decades but has not caused any greater damage. A few recent stress situations such as winter frost have caused the appearance of disease symptoms and a more intensive decay of grapevine. Also, the opening of market has made more difficult the surveillance of quality and health condition of planting material. The disease has been spreading most rapidly by way of infected plants. Among organisms harmful to plants Agrobacteria are classified in the category of controlled non-quarantine organisms under the official phytosanitary surveillance in the production and marketing of grapevine planting material. Due to increasing number of disease symptoms in vineyards and nurseries in the recent years, the Phytosanitary Administration of the Republic of Slovenia decided to introduce a special two-year programme which was performed in 2006 and 2007. The programme included visual observations, sampling and laboratory determination of the agent. The number of samples taken and analysed in frame of the programme was 203; the presence of agrobacteria was confirmed on 161 of them. The bacteria were isolated from basic, certified and standard planting material. They were also confirmed in mother plants.

¹ dipl. inž. ag., Hacquetova 17, SI-1001 Ljubljana

Ključne besede: *Agrobacterium* spp., vine, sampling, laboratory detection

1 UVOD

Tumorske zadebelitve in izrastki različnih oblik oz. rak koreninskega vratu, kot danes imenujemo to bolezen, je vinogradnikom znana že več kot 100 let. Bakterijo povzročiteljico tumorskih zedebelev na vinski trti in številnih ostalih gostiteljskih rastlinah je Conn leta 1942 poimenoval *Agrobacterium tumefaciens* (Young, 2005). Kasneje so ugotovili, da večino tumorskih sprememb na vinski trti povzroča druga vrsta bakterije. Ophel in Kerr (1990) sta jo poimenovala *Agrobacterium vitis*. Bakterijo *A. vitis* smo v Sloveniji prvič izolirali in določili leta 1998.

Agrobakterije, ki okužujejo vinsko trto, se lahko širijo na različne načine, pri čemer bi izpostavili predvsem širjenje s sadilnim materialom. Burr in ostali (1998) so zapisali, da se moramo pri preprečevanju širjenja osredotočiti predvsem na odporne sorte, na tehnologijo, ki znižuje možnost različnih poškodb in na neokužen sadilni material. Ophel (1988) je zapisal, da je okužen sadilni material najpomembnejši dejavnik širjenja patogena in je uporaba neokuženega sadilnega materiala celo bistvena za nemoteno proizvodnjo, saj se pri latentno okuženem sadilnem materialu lahko pojavijo bolezenska znamenja že ob vsakem večjem stresu. Vsem pogojem, ki so potrebni za preprečevanje širjenja patogena, sicer lahko teoretično zadostimo, vendar v praksi naletimo na velike ovire.

Razvoj bolezenskih znamenj pri rastlinah, ki so okužene z bakterijami iz rodu *Agrobacterium* je edinstven. Tumorji se razvijejo le tedaj, ko bakterije vnesejo svoj dedni material v dedni material gostiteljskih rastlin. Rastlinske celice tako postanejo avtonomno deleče se tumorske celice (Burr in sod. 1998). Patogenost *Agrobacterium vitis* je tako pogojena s prenosom dela Ti-plazmida v jedro DNA rastlinske celice. Ekspresija T-DNA se kaže v hiperprodukciji rastlinskih hormonov avksinov in citokininov, kar ima za posledico nastanek tumorjev in izločanje opinov (Kaufman in sod. 1996).

2 PROGRAM IN METODE DELA

Posebni program spremljanja bakterij iz rodu *Agrobacterium* je bil namenjen odkrivanju okužb, ki jih omenjene bakterije povzročajo na vinski trti. S programom spremljanja smo začeli zaradi vse večjega pojavljanja bolezenskih znamenj, ki jih na vinski trti povzročajo agrobakterije. Zaradi specifične biologije bakterije smo v času spomladanskih pregledov izvedli vzorčenja le na osnovi bolezenskih znamenj, v času jesenskih pregledov pa na osnovi bolezenskih znamenj in na mestih pridelave sadilnega materiala, tudi na osnovi latentnega pojava povzročitelja.

Obseg programa:

- vizualna opazovanja v vinogradih, matičnjakih, matičnih vinogradih in trsnicah
- odzemanje vzorcev pri sumljivih bolezenskih znamenjih
- odzemanje vzorcev za testiranje na osnovi latentne okuženosti
- laboratorijske analize
- vpisi v aplikacijo FITO – nadzor
- izdelava karte razširjenosti in opravljenih pregledov

Organizacije vključene v program:

- Kmetijski inštitut Slovenije
- Fitosanitarna inšpekcija
- Fitosanitarna uprava Republike Slovenije
- ostali (pooblaščenici izvajalci javne službe zdravstvenega varstva rastlin)

Metoda za dokazovanje okužbe pri vzorcih z izraženimi bolezenskimi znamenji:

- izolacija bakterij neposredno iz svežih tumorskih izrastkov
- inkubacija v PBS pufri
- nacepljanje na selektivna gojišča (1A, 2E, 3DG in R/S)
- gojenje v čisti kulturi
- po potrebi barvanje po Gramu
- Metoda za dokazovanje latentne okuženosti se od opisane razlikuje v zahtevnejši izolaciji bakterij iz rastlinskega tkiva, saj je koncentracija bakterij v takšnih vzorcih bistveno manjša.

Za potrditev bakterije smo opravili še:

- molekularno biološko metodo PCR: začetna oligonukleotida *pehA(F)* / *pehA(R)* za določanje *A. vitis* (Eastwell, 1995), začetna oligonukleotida *cytF* in *cytR* za določanje tumorogenih sevov (Hass, 1995) in začetna oligonukleotida *VCF/VCR* za določanje patogenih sevov (Sawada in sod., 1994)
- test patogenosti na testnih rastlinah (sončnica, kalanhoja, paradižnik)
- pri nekaterih izolatih smo opravili še sistem BIOLOG

Laboratorijske analize od priprave prispelih vzorcev, izolacije bakterij na gojiščih, identifikacije povzročitelja in potrditvene teste smo opravili na KIS-u. Vodena je bila tudi evidenca o prispelih vzorcih in rezultatih analiz, ki so bili vneseni v aplikacijo FITO – nadzor.

3 REZULTATI

V okviru dvoletnega programa so bili odvzeti 203 vzorci vinske trte, 192 vzorcev na osnovi sumljivih ali izrazitih bolezenskih znamenj in 11 na osnovi preverjanja latentne zastopanosti patogena. Bakterije iz rodu *Agrobacterium* smo potrdili v 161 vzorcih (Preglednica 1) od tega v enem vzorcu, kjer smo preverjali latentno zastopanost patogena. V 143 vzorcih smo potrdili bakterijo *A. vitis*, v 12 primerih *A. tumefaciens* in v 6 primerih smo določili le rod *Agrobacterium*. Polovica odvzetih vzorcev je imela izražena za bolezen zelo specifična bolezenska znamenja. Pri večini vzorcev so se bolezenska znamenja pojavila na cepljenem mestu. Pri nekaterih vzorcih so se bolezenska znamenja pojavila tudi na cepiču in podlagi. Iz petih vzorcev kljub izrazitim bolezenskim znamenjem nismo uspeli izolirati živih bakterij.

Preglednica 1: Število vzorčenj in število vzorcev v katerih so bile ugotovljene bakterije iz rodu *Agrobacterium* po preglednikih/vzorčevalcih v letu 2006 in 2007

PREGLEDNIK/ VZORČEVALEC	ŠT. VZORCEV	ŠT. VZORCEV V KATERIH SO BILE POTRJEENE BAKTERIJE IZ RODU <i>AGROBACTERIUM</i>	REZULTAT LABORATORIJSKE ANALIZE NEGATIVEN
FSI	148	119	29
KGZS - NM	24	13	11
KIS	31	29	2
SKUPAJ	203	161	42

Preglednica 2: Vrsta vzorčenega materiala in rezultat laboratorijskih analiz v letu 2006 in 2007

VRSTA MATERIALA	ŠT. VZORCEV	ŠT. VZORCEV V KATERIH SO BILE POTRJEJENE BAKTERIJE IZ RODU <i>AGROBACTERIUM</i>	REZULTAT LABORATORIJSKE ANALIZE NEGATIVEN
MR	23	16	7
MR - certifiiran	5	4	1
PO	3	2	1
TRTA	18	11	7
SA	107	88	19
SA - certificiran	28	27	1
SA - bazični	2	2	0
SA - standard	17	11	6
SKUPAJ	203	161	42

Opombe:

- SA – sadilni material, cepljenka vinske trte
 MR – matična rastlina (deli matične rastline)
 PO – podlaga
 TRTA – deli vinske trte

V letu 2007 smo na testiranje v referenčni laboratorij poslali 10 izolatov agrobakterij. Od tega tri izolate uporabljamo kot referenčne. Analize so opravili na inštitutu IVIA (Instituto Valenciano de investigaciones agrarias) v Španiji. Namen testiranja je bila primerjava naših rezultatov in rezultatov referenčnega laboratorija in s tem preverjanje zanesljivosti vpeljanih metod, ki jih pri identifikaciji agrobakterij uporabljamo pri nas. Na podlagi dobljenih rezultatov referenčnega laboratorija smo ugotovili, da so se rezultati naših in njihovih analiz ujemali.

Preglednica 3: Rezultati identifikacije desetih izolatov agrobakterij v našem in referenčnem laboratoriju (IVIA) in njihova primerjava

zaporedna št. vzorca	rezultati KIS				rezultati IVIA		
	PCR (pehA)	PCR (cyt)	Multiplex PCR	Rezultat	PCR (pehA)	PCR (tmr)	Rezultat
1	+	+	<i>A.v</i>	<i>A.vitis</i>	+	+	<i>A.vitis</i>
2	-	+	<i>A.t</i>	<i>A.tumefaciens</i>	-	-	<i>A.tumefaciens</i>
3	+		<i>A.v</i>	<i>A.vitis</i>	+	-	<i>A.vitis</i>
4	-		<i>A.r</i>	<i>A.rhizogenes</i>	-	-	<i>A.sp. (rhizogenes)</i>
5	+		<i>A.v</i>	<i>A.vitis</i>	+	+	<i>A.vitis</i>
6	+		<i>A.v</i>	<i>A.vitis</i>	+	+	<i>A.vitis</i>
7	-		<i>A.t</i>	<i>A.tumefaciens</i>	-	-	<i>A.tumefaciens</i>
8	+		<i>A.v</i>	<i>A.vitis</i>	+	+	<i>A.vitis</i>
9	-		<i>A.t</i>	<i>A.tumefaciens</i>	-	-	<i>A.tumefaciens</i>
10	+		<i>A.v</i>	<i>A.vitis</i>	+	-	<i>A.vitis</i>

V okviru programa je bilo vzorčenih 28 sort vinske trte, ter podlaga SO4 in Kober 5BB. Agrobakterije smo potrdili v sortah: Babič, Beli pinot, Chardonnay, Gamay, Kerner,

Kraljevina, Kraljica vinograda, Laški rizling, Modra frankinja, Modri pinot, Plavac mali, Portugalka, Ranfol, Ranina, Rebula, Refošk, Renski rizling, Rumeni muškat, Sauvignon, Syrah, Šentlovrenka, Šipon, Traminec, Zelen, Zweigelt in Žametna črnina. Pri sortah Vitoria in Zeleni silvanec agrobakterij nismo potrdili. Agrobakterije smo potrdili tudi v podlagi SO4. Kot podlage vzorcev (cepljenk), na katere so bile cepljene žlahtne sorte vinske trte v katerih smo določil agrobakterije so bile: SO4, Kober 5BB, Teleki 5C, Binova, Richter (brez oznake selekcije), VI M, Paulsen (brez oznake selekcije), Teleki 8B in 420 A. Izvor sadilnega materiala v katerem smo potrdili agrobakterije je bil iz Slovenije, Francije (podlage) in Hrvaške (cepič).

4 SKLEPI

V okviru programa so bili skupno odvzeti 203 vzorci, od katerih je imela polovica izrazita bolezenska znamenja. Le 11 vzorcev je bilo odvzetih na osnovi preverjanja latentne zastopanosti patogena in v enem od teh so bile potrjene agrobakterije. Ustreznost uporabljenih metod za identifikacijo agrobakterij smo potrdili z vzporednimi analizami vzorcev v referenčnem laboratoriju. Agrobakterije smo potrdili v 161 vzorcih, kar je 79,3 %. V 143 primerih oz. 89 % je bila izolirana bakterija *Agrobacterium vitis* v 18 primerih pa smo izolirali ostale agrobakterije. Za nastanek tumorskih sprememb na trti velja, da jih v 90% povzročajo bakterije *A. vitis* v 10% pa te spremembe povzročajo ostale vrste agrobakterij. Patogene bakterije smo potrdili v sadilnem materialu, matičnih trsih, vinski trti oz. njenih delih. Izvor sadilnega materiala, ki je bil vključen v laboratorijske analize, je bil iz Slovenije, Hrvaške in Francije. Večina vzorcev so bile okužene cepljenke vinske trte zato sklepamo, da je tudi pri nas za širjenje agrobakterij kriv predvsem okužen sadilni material. Ustreznost uporabljene metode za identifikacijo agrobakterij smo potrdili z vzporednimi analizami vzorcev v referenčnem laboratoriju.

5 LITERATURA

- Burr, T., J., Bazzi, C., Süle, S., Otten, L. 1998. Crown gall of grape: Biology of *Agrobacterium vitis* and the development of disease control strategies. *Plant disease*, 82: 1288 -1297
- Eastwell, C., K. 1995. A rapid and sensitive method to detect *Agrobacterium vitis* in grapevine cuttings using the polymerase chain reaction. *Plant disease*, 79: 822 - 827
- Haas, J., H., Moore, L., W., Ream, W., Manulis, S. 1995. Universal PCR primers for detection of phytopathogenic *Agrobacterium* strains. *Applied and environmental microbiology*, 61: 2879 – 2884
- Kaufman, M., Kassemeyer, H., H., Otten, L. 1996. Isolation of *Agrobacterium vitis* from grapevine propagating material by means of PCR after immunocapture cultivation. *Vitis*, 35: 151 – 153
- Ophel, K., Burr, T., J., Magarey, P., A., Kerr, A. 1988. Detection of *Agrobacterium tumefaciens* biovar 3 in South Australian grapevine propagation material. *Australasian plant pathology vol: 17 (3)*. 61 - 66
- Ophel, K., Kerr, A. 1990. *Agrobacterium vitis* sp. nov. for Strains of *Agrobacterium* biovar 3 from Grapevines. *International journal of systematic bacteriology*. Vol 40, no. 3: 236 – 241
- Sawada, H., Ieki, H., Matsuda, I. 1994. PCR detection of Ti and Ri plasmids from phytopathogenic *Agrobacterium* strains. *Applied and environmental microbiology*, 61: 828 – 831
- Young, M., J., Kerr, A., Sawada, H. 2005. Genus II. *Agrobacterium* Conn 1942. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol two. 340 – 345

OCENJEVANJE OBČUTLJIVOSTI PLODOV OREHA NA OREHOV OŽIG Z UMETNO INOKULACIJO

Matej ŠUŠTARŠIČ¹, Anita SOLAR², Maja RAVNIKAR³, Lidija MATIČIČ⁴, Gregor LIPOVŠEK⁵, Franci ŠTAMPAR⁶, Tanja DREO⁷

^{1, 3, 4, 7}Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo, Ljubljana

²Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Raziskovalno polje za lupinarje, Maribor

^{5, 6}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

IZVLEČEK

Orehov ožig povzroča bakterija *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (Pierce 1901) Vauterin, Hoste, Kersters in Swings 1995 (*X. a.* pv. *juglandis*). Bolezen se pojavlja na vseh območjih pridelave orehov pri čemer se sorte orehov razlikujejo po občutljivosti, na sam razvoj bolezni pa pomembno vplivajo klimatske razmere. Za določanje občutljivosti posamezne sorte za zdaj ni hitrih metod, zato smo v okviru naše raziskave preverili možnost ocenjevanja občutljivosti plodov z umetnim okuževanjem. Orehe, nabrane v fenofazi GF + 30, smo površinsko dezinficirali in na treh točkah vbodli z iglo, impregirano s *X. a.* pv. *juglandis*. Po inkubaciji smo orehe prečno in vzdolžno prerezali ter odtisnili na gojišča. Opazovali smo izražanje bolezenskih znamenj in razširjenost bakterij v plodovih ter ta parametra primerjali med sortami.

Ključne besede: občutljivost orehov, orehov ožig, *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*

ABSTRACT

ASSESING SUSCEPTIBILITY OF WALNUT FRUIT TO WALNUT BLIGHT USING ARTIFICIAL INOCULATIONS

Walnut blight is caused by bacteria *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* (Pierce 1901) Vauterin, Hoste, Kersters and Swings 1995 (*X. a.* pv. *juglandis*). The disease is present in most walnut production areas. Although walnut cultivars are differently susceptible, climatic conditions can play a major role in disease development. There are no fast methods for detection of walnut cultivar susceptibility that is why in our research we tried to examine the response of different walnut cultivars to artificial inoculations as a possible method of detection. Walnut fruits were collected at GF + 30 phenophase and surface disinfected. Each fruit was inoculated at three points with a needle impregnated with *X. a.* pv. *juglandis*. Fruits were incubated to allow development of symptoms then sliced vertically and horizontally and printed on growth media. Development of symptoms and bacterial spread were observed and compared among varieties.

Key words: *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*, susceptibility of walnut, walnut blight

¹ univ. dipl.biol., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

² dr. agron. znanosti., Vinarska 14, SI-2000 Maribor

³ prof. dr. biol. znan., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

⁴ projektni sodelavec, prav tam

⁵ diplomant, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

⁶ prof. dr., prav tam

⁷ dr. biol. znan., prav tam

1 UVOD

Xanthomonas arboricola pv. *juglandis* povzročča bakterijsko pegavost oreha, imenovano tudi orehov ožig (Vauterin s sod., 1995). Bakterijo uvrščamo v skupino gospodarsko pomembnih bakterij, saj lahko njen pojav povzročča velike gospodarske izgube. Bolezen orehovega ožiga je zastopana v vseh pridelovalnih območjih oreha (Loreti s sod., 2001). Bakterija napada vse zelene dele rastline, tudi plodove, kar posledično zmanjša pridelek (Belisario s sod., 1999). V splošnem velja, da je mlajše tkivo bolj občutljivo od starejšega, kar kaže na vlogo sekundarnih metabolitov, tudi fenolov (Solar s sod., 2006).

V raziskavi smo preizkusili metodo ocenjevanja razvoja bolezenskih znamenj inokuliranih plodov oreha, različno občutljivih sort, razvito v okviru projekta COST873, ki smo jo nadgradili z analizo slik odtisov prečno in vzdolžno prerezanih orehov na hranilnem gojišču. Občutljivost posameznih sort orehov smo ocenili z oceno izraženih bolezenskih znamenj.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Rastlinski material

Plodovi so bili nabrani v kolekcijskem nasadu Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, v Mariboru. Vključili smo šest sort (Seifersdorfski, Šampion, Cisco, Erjavec, Fernette in Zdole), ki se med seboj razlikujejo po občutljivosti plodov za orehov ožig. Med drugimi smo testirali zelo občutljivo sorto Šampion in manj občutljivo sorto Fernette (Solar, 1995-2006). Plodove smo nabrali v fenofazi GF + 30, jih površinsko dezinficirali v 4 % NaOCl, sprali v sterilni deionizirani vodi in posušili na sterilnem filter papirju.

2.2 Inokulacija plodov

Plodove smo inokulirali s španskim izolatom *X. a.* pv. *juglandis*, ki smo ga namnožili na hranilnem agarju (starost kolonij 3-4 dni, rast pri 25 °C). Inokulacijo smo izvedli z vbodom igle, s katero smo prej postrgali bakterije z agarja, v treh točkah. Vbodli smo do mezokarpa, pri čemer smo si pomagali z distančnikom. Oblikovali smo ga tako, da smo pri povprečnem orehu iz posamezne serije izmerili oddaljenost vrhnje plasti do mezokarpa in s sterilnim skalpelom odrezali odgovarjajoč del pokrovčka igle. V primeru negativne kontrole (slepa inokulacija), smo orehe vbodli s sterilno iglo.

2.3 Inkubacija in ocena razvitih znamenj bolezni

Inokulirane in slepo inokulirane orehe smo inkubirali pri temperaturi 25 °C, 16 urni fotoperiodi in v razmerah visoke zračne vlage (90 % relativna zračna vlaga). V posamezni seriji, ki je predstavljala plodove orehov ene sorte, je bilo med 36 in 40 plodov, od tega 5 slepo inokuliranih (negativna kontrola). Po inkubaciji (22 dni) smo plodove orehov prerezali. Simptome smo ocenili na prečno prerezanih plodovih z lestvico od 1- 4, pri čemer 1 predstavlja poškodbo tkiva ob umetni inokulaciji in 4 predstavlja nekroze v samem jedrcu.

2.4 Analiza razširjenosti bakterij v inokuliranih plodovih

Tako prečno kot tudi vzdolžno prerezane orehe vsake serije smo odtisnili na gojišča hranilnega agarja. Gojišča smo inkubirali do rasti kolonij in jih fotografirali. Za analizo fotografij smo uporabili program ImageJ, različico 1.41g. Določili smo površino odtisa oreha in površino istega odtisa, ki je bilo na hranilnem agarju prekrito z bakterijsko rastjo.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Oreh je pomembna rastlina v evropskem prostoru. Pridelavo lahko omejuje bolezen orehov ožig, pri čemer se sorte orehov razlikujejo po občutljivosti, na sam razvoj bolezní pa pomembno vplivajo klimatske razmere. Za določanje občutljivosti posamezne sorte za zdaj ni hitrih metod, zato smo v okviru naše raziskave preverili možnost ocenjevanja občutljivosti plodov z umetnim okuževanjem.

Za okuževanje plodov smo uporabili španski izolat bakterije *X. a. pv. juglandis* in metodo, oblikovano v okviru projekta COST873, ki smo jo nadgradili z odtisovanjem okuženih orehov na gojišča. Metoda predvideva vbodno inokulacijo bakterije do mezokarpa plodov orehov v fenofazi Gf + 30. V poskusih, v katerih smo plodove inokulirali z globljimi vbodi, je bil razvoj bolezenskih znamenj v celotnem jedrcu izredno hiter (podatki niso prikazani). Sklepamo, da je ob globlji inokulaciji obramba rastline premagana in razvita bolezenska znamenja niso sortno specifična. Za inokulacijo smo zato oblikovali distančnik, ki nam je omogočil natančno inokulacijo celotne serije plodov do enake globine - mezokarpa.

Plodovi, sort orehov, uporabljenih v poskusu, so fenofazo Gf + 30 dosegli v različnem času in so se razlikovali po zrelosti, velikosti in obliki. Pri vseh šestih sortah je bila povprečna vzdolžna površina prerezanega ploda med 13,71 in 16,47 cm², povprečna prečna površina oreha pa med 13,03 in 16,21 cm². Razen dveh sort (podolgovata oblika), so imeli plodovi ostalih sort kroglasto obliko.

Po umetni inokulaciji plodov z bakterijo *X. a. pv. juglandis* so se znamenja bolezní, značilna za orehov ožig, razvila pri vseh šestih testiranih sortah. Znamenja bolezní so se izražala predvsem v notranjosti oreha, mezokarpu in jedrcu, izredno redko pa na površini zelene lupine.

Pri ocenjevanju bolezenskih znamenj smo opazili tako nihanje bolezenskih znamenj ob treh točkah inokulacije znotraj posameznega plodu, kot znotraj sorte. Posamezen plod smo inokulirali trikrat, pri čemer smo iglo impregnirali s *X. a. pv. juglandis* samo enkrat. Razpon ocene bolezenskih znamenj znotraj plodu, med 1 in 3, ki smo ga posamično opazili, je najverjetneje posledica tega, da smo iglo ob inokulaciji plodu z bakterijo impregnirali le enkrat in se zato lahko vnesena količina bakterije med posameznimi vbodi rahlo razlikuje. Ravno tako je mogoče, da se debelina lupine ob točkah vboda pri nekaterih orehih razlikuje in da smo ob vbodu bakterije vnesli do različne globine. Z dovolj velikim številom plodov smo kljub temu zagotovili zanesljivost rezultatov. Razpon bolezenskih znamenj posamezne sorte je značilno različen, pri nekaterih sortah skoraj ne niha, pri drugih pa se giblje med 1 in 4, kar potrjuje našo hipotezo, da lahko z metodo umetne inokulacije ugotovimo razlike v občutljivosti sort.

Korelacija med časom vstopa sorte v fenofazo Gf + 30 in občutljivostjo sort ob umetni inokulaciji je bila šibka. V nasprotju z razširjeno predpostavko, da so zgodnejše sorte bolj občutljive, sta bili ob umetni inokulaciji dve od treh zgodnjih sort zelo občutljivi, najbolj zgodnja pa je bila bolj odporna. Rezultat ni presenetljiv, saj je znano, da so za razvoj orehovega ožiga pomembni tudi klimatski dejavniki, ki se lahko med enim mesecem (časovni razpon v katerem so opazovane sorte dosegle fenofazo Gf + 30) precej spremenijo.

Nadgradnja metode z odtisom prečno in vzdolžno prerezanih orehov na plošče gojišča hranilnega agarja, daje dodatne informacije o razširjanju bakterije v notranjosti oreha ter morebitni zastopanosti drugih bakterij. Analiza odtisa oreha na gojišče prikaže razporeditev bakterij ob koncu inkubacije.

Pri odtisih plodov, okuženih s *X. a. pv. juglandis*, smo v veliki večini primerov na gojiščih opazili rast bakterij z morfologijo, značilno za rod *Xanthomonas*.

Pri pregledu odtisov prečno prerezanih plodov na gojiščih je bila rast bakterij v nekaterih primerih lokalizirana na mesto inokulacije, večinoma pa je prišlo do preraščanja bakterij po

večjem delu ali celotni površini odtisa. Z analizo slike prečnih odtisov s programom ImageJ smo ugotovili površino namnožene bakterije na površino prereza. Opazili smo korelacijo med izraženimi bolezenskimi znamenji in površino bakterij. Sorti z najbolj izraženimi simptomi sta imeli tudi največji delež bakterij na površino prečnega prereza.

Velika težava pri določanju občutljivosti orehov je zaradi splošne razširjenosti bakterije *X. a. pv. juglandis* zagotavljanje zdravega izhodiščnega materiala. Nadgradnja metode odtisovanja okuženih orehov omogoča naknadno izolacijo bakterij in njihovo analizo. Z uporabo španskega izolata bakterije smo lahko le-tega naknadno razlikovali od drugih prisotnih bakterij z uporabo metode BOX-PCR (rezultati niso prikazani). Večina bakterij izoliranih iz umetno okuženih plodov sorte Seifersdorfski, je imela profil enak španskemu izolatu, kar kaže na to, da so bila razvita znamenja boleznih posledica umetne okužbe. Iz nekaterih orehov smo, včasih tudi ob španskem izolatu, iz notranjosti nekaterih orehov izolirali bakterijo *X. a. pv. juglandis*, ki smo jo lahko razlikovali od španskega izolata, s katerim smo umetno okuževali orehe. Sklepamo, da so bili plodovi okuženi že ob nabiranju, saj je kljub sterilni notranjosti ploda na nekaterih ploščah negativne kontrole bila opazna rast bakterij. Predhodna okužba seveda lahko vpliva na odziv rastline ob ponovni okužbi, zato nadgradnja metode, ki omogoča analizo bakterij ob koncu inkubacije okuženih plodov, pomembno prispeva k zanesljivosti metode in pravilni interpretaciji rezultatov.

Pri nekaterih sortah smo poleg bakterij rodu *Xanthomonas* na gojiščih opazili tudi posamične druge bakterije ali večje količine fluorescentnih bakterij rodu *Pseudomonas*. Te bakterije so bile prisotne predvsem ob odpadli brazdi pestičnega cveta, včasih pa tudi v notranjosti jedrca. Glede na rezultate testa hipersenzitivne reakcije na tobaku gre za patogene bakterije, ki bi lahko sodelovale bodisi pri vstopu bakterij *Xanthomonas*, bodisi same povzročale razvoj bolezenskih znamenj. Bakterije rodu *Pseudomonas* so pogosto povezane s poškodbami ob zmrzali, kar olajša vstop tudi drugim škodljivim organizmom. Poleg prisotnih bakterij *X. a. pv. juglandis*, imajo lahko ostali zastopani organizmi, pomembno vlogo pri razvoju bolezenskih znamenj orehovega ožiga in povezani škodi zaradi izgube pridelka.

4 SKLEPI

Glede na rezultate sklepamo, da metoda umetne inokulacije plodov orehov v fenofazi Gf + 30 pokaže razlike v odzivih plodov in razvitimi bolezenskimi znamenji med različnimi sortami. Metoda je enostavna in ustrezna za hkratno ocenjevanje občutljivosti večjega števila sort. Nadgradnja z odtisovanjem prerezanih orehov na gojišča nam daje dodatne informacije o pojavu in širjenju bakterij, tako tistih, s katerimi smo okuževali, kot tudi drugih bakterij, ki so lahko povezane z razvojem boleznih. V nadaljevanju bomo rezultate umetnega okuževanja primerjali z izraženimi bolezenskimi znamenji v naravi in s spremembo metabolizma fenolnih substanc v plodovih, okuženih s v s *X. a. pv. juglandis*.

5 ZAHVALA

Za financiranje se zahvaljujemo CRP bakterije (V4-0523). Hvala sodelavcem v projektu COST 873 (Bacterial diseases of stone fruits and nuts) za koristno izmenjavo informacij in dr. Marii M. Lopez (IVIA, Španija) za posredovanje španskega izolata bakterije *X. a. pv. juglandis*.

6 LITERATURA

- Belisario, A., Zoina, A., Pezza L., Luongo, L. 1999. Susceptibility of species of *Juglans* to pathogens of *Xanthomonas campestris*. *European Journal of Plant Pathology*, 29: 75-80.
- Loreti, S., Gallelli, A., Belisario, A., Wajnberg, E., Corazza, L. 2001. Investigation of genomic variability of *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* by AFLP analysis. *European Journal of Plant Pathology*, 107: 583-591.

- Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2008.
- Sharma, A. 1999. *Xanthomonas*. V: Robinson, R. K.. Encyclopedia of Food Microbiology. Elsevier, Oxford, 1999: str. 2323-2329.
- Solar, A. 1995-2006. Lupinarji. V: Introdukcija in selekcija sadnih rastlin. Ambrožič-Turk, B. (Ur.). Kmetijski inštitut Slovenije, 177 str.
- Solar, A., Colarič, M., Usenik, V., Štampar, F. 2006. Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinones in annual shoots of common walnut (*Juglans regia* L.). Plant science 170: 453-461.
- Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K., Swings, J. 1995. Reclassification of *Xanthomonas*. International Journal of Systematic Bacteriology, 45: 472-489.

RAZVOJ DIAGNOSTIČNE METODE ZA DOLOČANJE FITOPLAZME ASTER YELLOWS NA VINSKI TRTI S PCR V REALNEM ČASU

Petra NIKOLIĆ¹, Jana BOBEN², Matjaž HREN³, Maja RAVNIKAR⁴, Marina
DERMASTIA⁵

Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo, Ljubljana

IZVLEČEK

Fitoplazme so patogene bakterije brez celične stene, iz zelo raznolike skupine *Mollicutes*. So med najmanjšimi znanimi organizmi in so obligatni paraziti z dvogostiteljskim življenjskim ciklom, ki vključuje žuželke in rastline. Med slednjimi so številne kmetijsko pomembne. Do sedaj so bili vsi poskusi gojenja fitoplazem v bakterijskih kulturah neuspešni. Njihova zanesljiva detekcija je možna le z molekulskimi metodami. Na Nacionalnem inštitutu za biologijo izvajamo diagnostiko fitoplazem iz skupin 16SrXII, 16SrX in 16SrV, tako na sadnem drevju in vinski trti, kot tudi na negojenih rastlinah, ki so možen rezervoar za fitoplazme in bi se z njih fitoplazme lahko razširile na gospodarsko pomembne rastline. Za fitoplazme iz skupine Aster yellows (AY)/16SrI, ki okužujejo tudi vinsko trto, uvajamo v diagnostično prakso občutljivo in specifično metodo detekcije s PCR v realnem času. Pri razvoju smo najprej iz javno dostopne baze GenBank pridobili nukleotidna zaporedja, na katerih smo po poravnavi izbrali primerna območja za načrtovanje oligonukleotidnih začetnikov in sonde. V naslednjem koraku smo *in silico* ugotavljali specifičnosti oblikovanih oligonukleotidov s pomočjo orodja BLAST. Z nadaljnjimi testi smo preverjali specifičnosti načrtovanega amplikona na izolatih DNA različnih fitoplazem. Prav tako smo preverili možne navzkrižne reaktivnosti z zdravo vinsko trto in z ekstrakti bakterij, ki trto okužujejo.

Ključne besede: fitoplazme, PCR-RČ, rumenice aster, vinska trta

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF DIAGNOSTIC METHOD FOR ASTER YELLOW PHYTOPLASMA DETECTION ON GRAPEVINE WITH REAL-TIME PCR

Phytoplasmas are pathogenic bacteria, lacking cell wall and belong to the class *Mollicutes*. They are one of the smallest known obligate parasites with a two-host life cycle that comprises insects and plants. Phytoplasmas are associated with plant diseases of several hundred plant species, including many economically important crops. So far it has not been possible to grown them on an artificial media. Phytoplasmas can be efficiently determined and distinguished only by using molecular biology based methods. At the National institute of Biology we are performing the laboratory diagnostics for the 16SrXII, 16SrX and 16SrV phytoplasma groups on fruit trees, grapevine and on the non-cultivated plants, which might also act as reservoirs for phytoplasmas. Now we are introducing a sensitive and reliable real-time PCR method in our diagnostic practice also for the detection of Aster yellows phytoplasma (AY)/16SrI that infect many plants, including grapevine. For developing of the method we obtained nucleotide sequences from public accessible GeneBank database and

¹ univ. dipl. biol., Večna pot 111, SI-1111 Ljubljana

² dr. biol. znan., prav tam

³ dr. biol. znan., prav tam

⁴ prof. dr., prav tam

⁵ prof. dr., prav tam

designed an appropriate amplicon for the amplification of species-specific DNA region. The specificity of amplicon was analyzed *in silico* by BLAST software. For further specificity test of the designed detection system, we tested several different DNA isolates of phytoplasmas. Finally, we checked our system for potential cross-reactivities with samples from healthy field grapevine and from bacteria that infect grapevine.

Key words: aster yellows, grapevine, phytoplasma, real-time PCR

1 UVOD

Fitoplazme so rastlinske patogene bakterije brez celične stene, taksonomsko uvrščene v zelo raznoliko skupino *Mollicutes*. So med najmanjšimi znanimi organizmi in imajo enega najmanjših genomov (530 – 1350 bp). Fitoplazme so obligatni paraziti, z dvema skupinama gostiteljev, žuželkami in rastlinami. V rastlinah naseljujejo izključno floemska tkiva. Na okuženih rastlinah fitoplazme povzročajo različna bolezenska znamenja kot so rumenenje, rdečenje listov, razbarvanje in deformacije cvetov, pretvorbe cvetov v zelene poganjke, metličavost, majhne plodove, skrajšane ali podaljšane internodije. Okužba gospodarsko pomembnih rastlin je povezana z zmanjšanim pridelkom, v skrajnem primeru lahko rastline tudi povsem propadejo.

Na Nacionalnem inštitutu za biologijo smo prve analize določanja fitoplazem začeli izvajati že leta 1999 in danes jih določamo na različnem rastlinskem materialu in v žuželčjih prenašalcih. Z uvedenimi metodami določamo tri sorodne vrste fitoplazem iz skupine 16SrX na sadnem drevju – '*Candidatus* phytoplasma mali', povzročiteljico boleznih metličavost jablan (apple proliferation – AP), '*Ca.* phytoplasma pruni', povzročiteljico boleznih leptonekroza koščičarjev (european stone fruit yellows – ESFY) in '*Ca.* phytoplasma pyri', povzročiteljico boleznih odmiranja hrušk (pear decline – PD). Na vinski trti določamo fitoplazmo iz skupine 16SrXII '*Ca.* phytoplasma solani', povzročiteljico boleznih črni les (bois noir – BN) in karantensko '*Ca.* phytoplasma vitis', povzročiteljico boleznih zlate trsne rumenice (flavescence dorée – FD) iz skupine 16SrV. Vinska trta ni edini gostitelj teh fitoplazem, saj smo že dokazali pojav '*Ca.* phytoplasma solani' na slaku in pojav '*Ca.* phytoplasma vitis' na navadnem srobotu (*Clematis vitalba*). To nakazuje možnost prenosa fitoplazem z žuželčjimi vektorji z negojenih rastlin, ki morda služijo kot rezervoar fitoplazem, na gospodarsko pomembne rastline. V Sloveniji je zastopana tudi '*Ca.* phytoplasma asteris', povzročiteljica boleznih rumenic aster (Radišek in sod. 2008) iz taksonomske skupine Aster yellows (AY)/16SrI. AY je med najbolj raznolikimi in geografsko zelo razširjenimi skupinami fitoplazem. Fitoplazme iz te skupine povzročajo bolezenska znamenja predvsem na rastlinah iz družine *Asteraceae*, vendar okužujejo tudi vinsko trto (Alma in sod., 1996; Angelini in sod., 2007), na kateri povzročajo bolezen trsno rumenico. Trsne rumenice vinske trte povzročajo različne nesorodne fitoplazme. Bolezenska znamenja so si med seboj zelo podobna in fitoplazem na njihovi osnovi ni mogoče ločiti. Najprimernejša metoda za njihovo hitro, natančno in zanesljivo razlikovanje ter določanje je PCR v realnem času (PCR-RČ), vendar mora biti metoda skrbno načrtovana in preverjana. V tem prispevku predstavljamo razvoj take metode za določanje '*Ca.* phytoplasma asteris' na vinski trti in primerjavo metode z že obstoječo metodo (Angelini in sod., 2007).

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Izvor materiala

Za primerjavo dveh metod za določanje fitoplazme AY smo uporabili izolate DNA iz vinske trte in DNA fitoplazem iz skupin

- 16SrI: *Ribes* in *Vinca*, *Rehmannia glutinosa* in Strawberry green petal, izolirane iz madagaskarskega zimzelena (*Cataranthus roseus*) in 'Ca. p. asteris', izolirano iz ameriškega slamnika (*Echinaceae purpurea*)
- 16SrII: *Vinca* coconut phyllody, Tomato big bud, Sweet potato little leaf, Soybean phyllody, Faba bean phyllody in *Crotalaria saltiana* phyllody, izolirane iz madagaskarskega zimzelena
- 16SrIV: Lethal yellows, izolirano iz madagaskarskega zimzelena
- 16SrV: 'Ca. p. vitis', izolirano iz madagaskarskega zimzelena in vinske trte
- 16SrVI: Brinjal little leaf, izolirano iz madagaskarskega zimzelena
- 16SrX, 'Ca. p. mali', 'Ca. p. pruni', 'Ca. p. piri' izolirane iz madagaskarskega zimzelena in sadnega drevja
- 16SrXI: Napier grass stunt, izolirano iz madagaskarskega zimzelena
- 16SrXII: 'Ca. p. solani', izolirano iz madagaskarskega zimzelena in vinske trte
- vzorec neznanega tipa fitoplazme, izoliranega iz ameriškega slamnika.

Poleg DNA fitoplazem smo uporabili DNA nesimptomatične vinske trte in bakterijske izolate izolirane iz različnih sort vinske trte.

2.2 Oblikovanje sistema za določanje s PCR-RČ in izvedba

Začetne oligonukleotide in sonde smo izdelali na podlagi nukleotidnih zaporedij DNA fitoplazem 'Ca. phytoplasma asteris', 'Ca. phytoplasma solani' in 'Ca. phytoplasma vitis', iz javno dostopnih baz podatkov GeneBank. Uporabili smo kemijo TaqMan[®] MGB[™]. S pomočjo programa Vector NTI[™] 9.0 (Invitrogen) smo poravnali izbrana zaporedja DNA fitoplazem iz skupin 16SrI (AF503568, AY180929, AY180926, AF268406, AF268407, AF322644, AF322645, AF268409, AF268408, AY180927, AY180928); 16SrV (AF122910, AF122911, Y16387, AF305198, AF305240, AY072722, AY576685, AY197654, AY197648, AY197650, AY197649, AY197651, AY332659) in 16SrXII (AJ964960, EU014776, EU010006, EU010010, EU010007, EU010008, EU010009, EU014779, EU014778, EU014777, AY377868, AY083605). Zaradi raznolikosti znotraj skupine AY smo se odločili za sondo z eno degeneracijo. Pozicija začetnih oligonukleotidov in sonde je na delu gena za 16S, kjer lahko ločimo fitoplazme 16SrXII in 16SrV od fitoplazme AY/16SrI. Za načrtovanje začetnih oligonukleotidov in sonde smo uporabili program PrimerExpress[™] 3.0 (Applied Biosystems). Specifičnost načrtovanih začetnih oligonukleotidov in sonde smo preverili *in silico*, s primerjavo z znanimi zaporedji v bazah podatkov s pomočjo programa Basic Local Alignment Tool – BLAST. Testiranje ni pokazalo nespecifičnih zadetkov.

Primerjavo med načrtovanim sistemom PCR-RČ za določanje fitoplazme AY (v nadaljevanju AYnib) in sistemom za določanje fitoplazme AY Angelini in sod. (2007) (v nadaljevanju AYan) smo izvedli, kot je opisano v Hren in sod. (2007). Prav tako smo, na enak način kot je zapisano v Hren in sod. (2007), določili lastnosti obeh sistemov za določanje fitoplazem AY: mejo detekcije, občutljivost amplikonov in učinkovitost pomnoževanja.

Preglednica 1. Oblikovanje začetnikov in sonde.

Ime	Nukleotidno zaporedje (5' – 3')
AYnibF začetni oligonukleotid	GGGTTAAGTCCCGCAACGA
AYnibR končni oligonukleotid	TCTTGCTAAAGTCCCCACCATTAC
AYnibS sonda	*FAM-CAACCTTATTGTTAGTTRCCAG-MGB*

* Sonda ima na 5' koncu vezano fluorescentno barvilo FAM (6-karboksifluorescein), na 3' koncu pa vezan nefluorescentni dušilec imenovan MGB (minor groove binder).

2.3 Testi specifičnosti

Specifičnost obeh sistemov za določanje fitoplazme AY smo ugotavljali s preverjanjem pojava navzkrižnih reakcij z: (1) DNA različnih tipov fitoplazem, ki jih lahko najdemo na vinski trti (16SrXII, 16SrV in 16SrI), (2) DNA različnih tipov fitoplazem, ki jih ni na vinski trti (16SrII, 16SrIV, 16SrVI, 16SrX in 16SrXI), (3) rastlinsko DNA izolirano iz listnih žil zdravih rastlin vinske trte različnih sort in (4) bakterijskimi izolati, ki so zastopani na vinski trti.

Produkte PCR-RČ smo posredno vizualizirali s programom SDS 2.3 (Applied Biosystems), s pomočjo katerega smo naredili tudi začetne analize podatkov.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V raziskavi smo primerjali dva sistema za detekcijo fitoplazem AY s PCR-RČ: že objavljeni sistem AYan (Angelini s sod. 2007) in sistem AYnib, oblikovan v našem laboratoriju. Dokazali smo, da oba sistema enakovredno razlikujeta fitoplazmo AY od ostalih fitoplazem, ki se pojavljajo na vinski trti (16SrV in 16SrXII) (preglednica 2A); večje razlike pa smo opazili pri drugih testih specifičnosti (preglednica 2B in D).

Preglednica 2: Testi specifičnosti.

TESTI SPECIFIČNOSTI		Izvor DNA Št. vzorcev	POMNOŽEVANJE (Št.poz.vzorcev/Št. testiranih)				
			Načrtovanje NIB (AYnib)	Načrtovanje Angelini (AYan)			
A	DNA fitoplazem vinske trte	Aster yellows (16SrXI)	<i>C. roseus</i> (4), <i>E. purpurea</i> (1)	4/4 1/1	4/4 1/1		
		Elm yellows (16SrV)	<i>V. vinifera</i> (3) <i>C. roseus</i> (1)	0/3 0/1	0/3 0/1		
		Stolbur (16SrXII)	<i>V. vinifera</i> (22) <i>C. roseus</i> (1)	0/22 0/1	0/22 0/1		
B	DNA fitoplazem, ki ne okužujejo vinske trte	Peanut WB (16SrII)	<i>C. roseus</i> (6)	4/6	0/6		
		Coconut lethal yellows (16SrIV)	<i>C. roseus</i> (1)	0/1	0/1		
		Clover proliferation (16SrVI)	<i>C. roseus</i> (1)	1/1	0/1		
		Appel proliferation (16SrX) - AP - ESFY - PD	jablane (3) <i>C. roseus</i> (2) koščičarji (3) <i>C. roseus</i> (1) hruške (3)	1/4 0/2 0/4 0/1	0/4 0/2 0/4 0/1		
				Rice yellow dwarf (16SrXI)	<i>C. roseus</i> (1)	0/1	0/1
				C	DNA fitoplazme neznanega tipa	<i>E. purpurea</i> (1)	0/1
D	Bakterijski izolati iz rastlinskih ekstraktov različnih sort vinske trte			Bakterije (41)	0/41	3/41	
E	DNA nesimptomatičnih vzorcev vinske trte	<i>V. vinifera</i> (20)	1/20	0/20			

AYnib nespecifično pomnožuje DNA fitoplazem iz treh skupin, ki ne okužujejo vinske trte (preglednica 2B). Zaradi tega naj ta navzkrižna reaktivnost ne bi bila odločilna za diagnostiko fitoplazme AY na vinski trti. Pri testiranju sistema AYnib z izolati DNA iz nesimptomatičnih vinskih trt, smo pri enem vzorcu dobili pozitivno reakcijo (preglednica 2E). Ker nimamo na voljo izolatov DNA fitoplazme AY iz vinske trte, ne moremo z gotovostjo trditi, da je pozitiven signal nespecifičen in je posledica navzkrižne reaktivnosti, ali pa je bil vzorec resnično okužen s fitoplazmo AY, katere koncentracija pa je bila zelo nizka.

Pri sistemu AYan smo dobili nespecifična pomnoževanja določenih bakterijskih izolatov (preglednica 2D), ki se pojavljajo pri vinski trti, kar lahko vpliva na verodostojnost dobljenega pozitivnega rezultata.

Oba sistema za določanje fitoplazme AY smo testirali še z dvema izolatoma DNA fitoplazem iz ameriškega slavnika. Obe rastlini sta kazali značilna bolezenska znamenja okužbe s fitoplazmami. Pri enem vzorcu je bila fitoplazma AY predhodno dokazana že z drugo metodo (Radišek in sod., 2008). Njen pojav smo potrdili z obema preizkušanima sistemoma. Pri drugem vzorcu smo dokazali okužbo s fitoplazmami z univerzalnimi začetnimi oligonukleotidi, vendar tipa fitoplazme nismo uspeli določiti. Iz tega sklepamo, da je ameriški slanik gostitelj vsaj dvema vrstama fitoplazem in bi bil lahko univerzalni gostitelj za različne vrste fitoplazem.

4 SKLEPI

Metoda, ki smo jo razvili za določanje fitoplazme AY na vinski trti, v primerjavi z metodo Angelini in sod. (2007), ne daje nespecifičnih signalov z izolati iz vinske trte. Za razliko od metode Angelini in sod. (2007) pa daje nespecifične signale z drugimi fitoplazmami, ki niso zastopane na vinski trti. V primeru splošne detekcije fitoplazem iz skupine 16SrI na drugih gostiteljskih rastlinah zanesljivo določanje omogoča kombinacija obeh sistemov.

5 ZAHVALA

Zahvaljujemo se dr. Sebastjanu Radišku za vzorec DNA fitoplazme, izolirane iz ameriškega slavnika. Prav tako se zahvaljujemo dr. Mattu Dickinsonu za vzorce DNA fitoplazem iz skupin 16SrI, 16SrII, 16SrIV, 16SrVI in 16SrIX.

6 LITERATURA

- Alma, A., Davis, R.E., Vibio, M., Danielli, A., Bosco, D., Arzone, A., Bertaccini, A. 1996. Mixed infection of grapevines in Northern Italy by phytoplasmas including 16S rRNA RFLP subgroup 16SrI-B strains previously unreported in this host. *Plant. Disease*, 80: 418-421.
- Angelini, E., Bianchi, G.L., Filippin, L., Morassutti, C., Borgo, M. 2007. A new TaqMan method for identification of phytoplasma associated with grapevine yellows by real-time PCR assay. *Journal of Microbiological Methods*, 68: 613-622.
- Hren, M., Boben, J., Rotter, A., Kralj, P., Gruden, K., Ravnikar, M. 2007. Real-time PCR detection systems for Flavescence dorée and Bois noir phytoplasmas in grapevine: comparison with conventional PCR detection and application in diagnostics. *Plant. Pathology* 56: 785-796.
- Radišek, S., Ferant, N., Jakše, J., Javornik, B. 2008. Identification of a phytoplasma from the aster yellows group infecting purple coneflower (*Echinacea purpurea*) in Slovenia. *New Disease Reports*. (Accepted for publication 19 Sep 2008).

ZAGOTAVLJANJE ZDRAVEGA IZHODIŠČNEGA MATERIALA KOŠČIČARJEV Z VZGOJO MATIČNIH DREVES V MREŽNIKU

Nikita FAJT¹, Gabrijel SELJAK², Matjaž PRINČIČ³, Erika KOMEL⁴, Robert VEBERIČ⁵,
Nataša MEHLE⁶, Jana BOBEN⁷, Tanja DREO⁸, Maja RAVNIKAR⁹, Barbara AMBROŽIČ-
TURK¹⁰

^{1,2,3,4}KGZS, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica

⁵Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

^{6,7,8,9}Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo,
Ljubljana

¹⁰Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za sadjarstvo in vinogradništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

Fitoplazma European stone fruit yellows (ESFY) povzroča pri gojenju koščičastih sadnih vrst veliko gospodarsko škodo. Na gostiteljske rastline iz rodu *Prunus* se prenaša z vektorjem češpljevo bolšico (*Cacopsylla pruni*), širi se tudi z vegetativnim razmnoževanjem. Uporaba zdravega izhodiščnega materiala je bistvenega pomena pri preprečevanju širjenja fitoplazem in drugih povzročiteljev bolezni. Z namenom poskusa vzdrževanja zdravih matičnih rastlin ter ugotavljanja možnosti pridelave kakovostnih cepičev so bile spomladi 2007 na lokaciji Sadjarskega centra v Biljah posajene matične sadike koščičarjev v mrežnik. V prispevku je prikazana entomološka analiza spremljanja prenašalcev ESFY ter rezultati spremljanja zdravstvenega stanja in parametrov razvoja matičnih rastlin v mrežniku ter pri kontrolnih drevesih zunaj mrežnika v letih 2007 in 2008.

Ključne besede: koščičaste sadne vrste, matični material, mrežnik, prenašalci, spremljanje bolezni

ABSTRACT

ASSURANCE OF HEALTHY PROPAGATING MATERIAL OF STONE FRUITS BY CULTIVATING MOTHER TREES IN INSECT-PROOF NET-HOUSE

European stone fruit yellows (ESFY) phytoplasma is associated with a severe disease that affects stone fruit species. In nature ESFY phytoplasma is transmitted from infected plants to the host plants of *Prunus* spp. by its vector *Cacopsylla pruni*. The pathogen can also be introduced to new areas by infected material used for grafting. The use of healthy propagating/planting material is therefore of great importance to prevent the spread of these pathogens. The purpose of this research was to maintain healthy mother plants under the protected environment in an insect-proof net-house and to assess the possibility of

¹ dr., univ. dipl. inž. agr., Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica

² mag., univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ dipl. inž. agr., prav tam

⁵ doc. dr., univ. dipl. inž. agr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

⁶ mag., univ. dipl. biol., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

⁷ dr., univ. dipl. mikrobiol., prav tam

⁸ dr., univ. dipl. mikrobiol., prav tam

⁹ prof. dr., univ. dipl. biol., prav tam

¹⁰ mag., univ. dipl. agr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

production of healthy, properly developed budwood in such conditions. Thus the 'virus free' plants of stone fruits were planted in the insect-proof net-house located in the Fruit Growing Centre of Bilje in the spring 2007. Entomological analysis of the vectors of phytoplasma as well as the plant health status and the growth parameters of the trees from the net-house and from the outdoor control trees were followed in the 2007 and 2008. The results are presented in this paper.

Key words: disease control, insect-proof net-house, propagating material, stone fruit species, vectors

1 UVOD

Vzgoja zdravega razmnoževalnega materiala predstavlja pomemben ukrep pri preprečevanju širjenja škodljivih organizmov. Med njimi je fitoplazma European stone fruit yellows (ESFY; '*Candidatus* Phytoplasma prunorum') (Seemüller in Schneider, 2004) nevaren rastlinski povzročitelj bolezní, ki pri gojenju koščičastih sadnih vrst povzroča veliko gospodarsko škodo. Bolezen je razširjena tako v Evropi, kot tudi pri nas. Predvsem pri marelicah, slivah kitajsko-japonskega izvora ter breskvah in nektarinah povzroča značilna rumenenja in postopna odmiranja dreves, ki so posebej izrazita pri občutljivih sortah (Carraro in Osler, 2003). Z vidika širjenja bolezní so nevarne latentne okužbe različnih vrst sliv (*P. domestica*, *P. spinosa*, *P. cerasifera*), ki ne kažejo bolezenskih znamenj in predstavljajo prikrit vir okužb (Carraro *et al.*, 2004). Fitoplazma ESFY se na gostiteljske rastline iz rodu *Prunus* prenaša z vektorjem češpljevo bolšico (*Cacopsylla pruni* (Scopoli)) (Carraro *et al.*, 1998). Dokazan je tudi prenos fitoplazme ESFY z breskovim škržatkom (*Asymmetrasca decedens* (Paoli)) (Pastore *et al.*, 2004). Bolezen se prenaša tudi z vegetativnim razmnoževanjem. Vzdrževanje zdravih matičnih rastlin v zavarovanih razmerah je bistvenega pomena, predvsem v okoljih z visokim infekcijskim pritiskom patogenih mikroorganizmov, kakršne so razmere tudi pri nas v pridelovalnem območju koščičarjev na Primorskem (Ambrožič Turk *et al.*, 2008). Z zastavljenim poskusom vzgoje matičnih rastlin v zaščiteni razmerah mrežnika želimo poleg zdravstvenega vidika ugotoviti tudi možnost pridelave cepičev ustrezne tehnološke kakovosti v spremenjenih mikroklimatskih razmerah mrežnika, predvsem zaradi zmanjšane osvetlitve ter morebitnega slabšega dozorevanja lesa.

2 MATERIAL IN METODE

Spomladi 2007 je bil na lokaciji Sadjarskega centra v Biljah posajen brezvirusni bazni matični material koščičastih sadnih vrst v mrežnik, velikosti 500 m². Posajene so bile različne sorte breskev in nektarin, sliv in marelic, skupno 81 dreves. Spremljanje parametrov rasti in tehnološke kakovosti cepičev je potekalo pri sorti breskve 'Redhaven', na 12 drevesih v mrežniku ter na 12 drevesih iste sorte primerjalno zunaj njega. Spremljali smo zdravstveno stanje matičnih rastlin v mrežniku in kontrolnih dreves zunaj mrežnika z vzorčenjem korenin, listov in poganjkov za analize na zastopanost fitoplazme ESFY, virusa šarke PPV ter bakterioz, predvsem *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, kakor tudi pojav prenašalcev teh bolezní. Za preverjanje zastopanosti fitoplazem ESFY smo po izolaciji celokupne DNA uporabili molekularne metode - PCR, vgnezdjeni PCR in PCR v realnem času (Schneider *et al.*, 1995; Lorenz *et al.*, 1995; Hren *et al.*, 2007). Za ugotavljanje zastopanosti bakterioz smo uporabljali metode izolacije na gojiščih in serološko metodo indirektné imunofluorescence. Za detekcijo virusa šarke PPV je bila uporabljena serološka metoda DAS-ELISA. Za ugotavljanje zastopanosti potrjenih ter potencialnih prenašalcev karantenskih bolezní, smo v mrežnik in izven njega namestili rumene lepljive plošče velikosti 24,5 x 13,5 cm tipa Terminator. Plošče smo v rastni dobi menjavali vsakih štirinajst dni ter ugotavljali ulov prenašalcev. Za ugotavljanje stanja dozorelosti lesa, ki je bistveno za doseganje dobrega izplena pri cepljenju, so bile poleti 2008 opravljene analize vsebnosti ogljikovih hidratov

(glukoza, fruktoza, sorbitol in saharoza) v vzorcih floema poganjkov v treh terminih rezanja cepičev. Za določitev sladkorjev je bila uporabljena metoda tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC) (Dolenc Šturm *et al.*, 1999). Kakovost cepičev iz mrežnika smo ugotavljali tudi s prijemom cepičev pri cepljenju na brezvirusno podlago GF 677, primerjalno s cepiči s kontrolnih dreves. Meritve količine fotosintetsko aktivne svetlobe (photosynthetic photon flux – PPF) so bile opravljene z merilcem 'Sunfleck ceptometer' v razmerah mrežnika ter primerjalno zunaj njega tekom obeh ravnih dob od maja do konca septembra.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Spremljanje prenašalcev

Entomološka analiza spremljanja prenašalcev ESFY v letih 2007 in 2008 ni potrdila pojava prenašalca češpljeve bolšice (*Cacopsylla pruni*) tako v mrežniku kot zunaj njega, ugotovljen pa je bil pojav potencialnega prenašalca breskovega škržatka (*Asymmetrasca decedens*) pri kontrolnih drevesih zunaj mrežnika. Prav tako se v obeh opazovanih letih na rumene lepljive plošče v mrežniku ni lovila nobena druga fitofagna žuželka, kar potrjuje učinkovitost mrežnika pri preprečevanju prenosa bolezni koščičarjev z naravnimi prenašalci. Avgusta 2008 je bila zabeležena namnožitev fitofagnih pršic vrste *Tetranychus turkestani* (Ugorov & Nikolski) v mrežniku.

3.2 Spremljanje zdravstvenega stanja matičnih rastlin

V prvih dveh letih spremljanja zdravstvenega stanja matičnih rastlin ni bil ugotovljen pojav karantenskih škodljivih organizmov - fitoplazme ESFY, bakterije *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* ter virusa šarke *Plum pox virus* (PPV) na drevesih v mrežniku, kakor tudi ne na kontrolnih drevesih zunaj njega. Zaradi specifičnih mikroklimatskih razmer v mrežniku je bila pri nekaterih sortah breskve ugotovljena povečana dovzetnost za glivično bolezen - ožig breskove skorje (*Fusicoccum amygdali*), ki je povzročila sušenje posameznih enoletnih šib, kar pa ni vplivalo na nadaljnjo rast in obraščanje dreves.

3.3 Spremljanje parametrov razvoja rastlin ter vsebnosti ogljikovih hidratov v skorji poganjkov

Spremljana drevesa sorte 'Redhaven' so v mrežniku v obeh ravnih dobah dosegla značilno višjo rast v primerjavi s kontrolnimi drevesi na prostem. Podatki parametrov rasti so prikazani v preglednici 1. V prvi ravnih dobi 2007 so bili poganjki pri drevesih na prostem, kljub izvajanju varstva s fitofarmaceutskimi pripravki, deloma prizadeti zaradi napada breskovega zavijača (*Cydia molesta*), zaradi česar je bila rast zavrta. To se kaže tudi v zelo majhni količini razpoložljivih brstov za cepljenje. V letu 2008 je bila rast dreves v obeh okoljih zelo dobra, čeprav je bila višina dreves v mrežniku značilno večja kot pri drevesih na prostem, vendar pa ni bilo statistično značilne razlike v številu očes za cepljenje. Že v letu 2007 smo opazili, da so bili listi v mrežniku bistveno večji kot pri kontrolnih drevesih na prostem, kar smo v letu 2008 potrdili z meritvami, saj je bila razlika v velikosti listne ploskve statistično značilna. Z meritvami svetlobe, opravljenimi tekom obeh ravnih dob je bilo ugotovljeno, da je količina fotosintetsko aktivne svetlobe, izmerjene v razmerah mrežnika glede na količino svetlobe izmerjene primerjalno na prostem, v povprečju med 50 % - 60 %, kar ne predstavlja omejevalnega faktorja pri rasti in razvoju rastlin.

Z namenom ugotavljanja fiziološkega stanja poganjkov/cepičev v spremenjenih razmerah v mrežniku, smo v poletnem času v treh terminih vzorčenja spremljali vsebnost asimilatov v poganjkih iz mrežnika ter primerjalno iz kontrolnih dreves na prostem.

Preglednica 1: Parametri razvoja dreves sorte 'Redhaven' v mrežniku in kontroli (zunaj mrežnika) v letih 2007 in 2008.

Table 1: Growth parameters of cv. 'Redhaven' from the net-house trees and from the outdoor control trees in 2007 and 2008.

Parametri razvoja	Leto	Kontrola	Mrežnik	
Višina drevesa (cm)	2007	134	199	*
	2008	263	327	*
Število brstov za cepljenje (št./drevo)	2007	24	115	*
	2008	687	693	ns
Velikost listne ploskve (cm ²)	2008	42,7	46,6	*

ns – razlika ni statistično značilna

* – razlika je statistično značilna pri $\alpha = 0,05$ (t-test)

Rezultati spremljanja so pokazali, da je bila pri prvem terminu vzorčenja vsebnost vseh analiziranih ogljikovih hidratov najvišja, kot posledica največje aktivnosti listov in se je pri kasnejših terminih zmanjšala (Preglednica 2). Izmed ogljikovih hidratov analiziranih v skorji poganjkov sta po vsebnosti izstopala monosaharida fruktoza in glukoza, sledila sta sorbitol ter z najmanjšo vsebnostjo še saharoza, kot transportni obliki ogljikovih hidratov. Med poganjki iz mrežnika in kontrolnimi poganjki izven mrežnika, v prvem in tretjem terminu ni bilo statistično značilnih razlik glede vsebnosti sorbitola in saharoze. V drugem terminu rezanja cepičev pa so bile razlike v vsebnosti značilne v korist poganjkov, odvzetih iz mrežnika. Na podlagi dobljenih rezultatov sklepamo, da poganjki odvzeti v mrežniku, zaradi zmanjšane osvetlitve, niso bili slabše založeni z transportnimi oblikami ogljikovih hidratov.

Preglednica 2: Vsebnosti ogljikovih hidratov (fruktoza, glukoza, saharoza, sorbitol) v floemu poganjkov sorte 'Redhaven' v mrežniku in kontroli (zunaj mrežnika) v letu 2008 v treh terminih vzorčenja.

Table 2: Carbohydrates content (fructose, glucose, sucrose, sorbitol) in the phloem of cv. 'Redhaven' shoots from the net-house and from outdoor control trees sampled three times during the summer 2008.

Ogljikov hidrat	Termin vzorčenja poganjkov ⁽¹⁾	Vsebnost ogljikovih hidratov (g/kg)		
		kontrola	mrežnik	
Fruktoza	1.	12,1	12,7	ns
	2.	8,4	9,0	ns
	3.	8,6	7,5	*
Glukoza	1.	9,8	9,9	ns
	2.	7,0	8,7	*
	3.	8,8	7,3	*
Saharoza	1.	2,5	2,4	ns
	2.	1,9	2,1	*
	3.	2,1	2,2	ns
Sorbitol	1.	8,0	8,3	ns
	2.	5,5	6,6	*
	3.	6,5	6,8	ns

ns – razlika ni statistično značilna

* – razlika je statistično značilna pri $\alpha = 0,05$ (t-test)

⁽¹⁾ 1. termin: 26. 8. 2008; 2. termin: 9. 9. 2008; 3. termin: 23. 9. 2008.

V sklopu spremljanja fiziološke kakovosti cepičev z ugotavljanjem izplena pri cepljenju so prvi rezultati cepljenja v letu 2007 pokazali enakovreden prijem cepičev iz mrežnika in s

kontrolnih dreves zunaj njega, to je 100 % oziroma 96,7 %. Rezultati cepljenja, opravljenega v treh različnih poletnih terminih v letu 2008, bodo znani ob brstenju spomladi 2009.

4 SKLEPI

Rezultati spremljanja navzočnosti prenašalcev in zdravstvenega stanja matičnih rastlin so pokazali, da v obeh opazovanih letih v mrežniku ni bilo najdenih prenašalcev karantenskih škodljivih organizmov, niti drugih fitofagnih žuželk. Prav tako v letih 2007 in 2008 ni bil ugotovljen pojav karantenskih škodljivih organizmov fitoplazme ESFY, bakterije *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* ter virusa šarke PPV na drevesih v mrežniku in na kontrolnih drevesih. Rezultati spremljanja razvoja rastlin pri sorti 'Redhaven' so pokazali višjo rast dreves v mrežniku z daljšimi poganjki, medtem ko je bilo povprečno število brstov/drevo, ki jih uporabljamo za cepljenje, v letu 2008 podobno na drevesih v mrežniku, kot na tistih zunaj. Iz opravljenih analiz založenosti z ogljikovimi hidrati v skorji poganjkov lahko sklepamo, da je kakovost poganjkov iz dreves, ki so rasla v mrežniku ter na prostem povsem primerljiva.

5 ZAHVALA

Delo, ki ga obravnava prispevek, poteka v okviru Ciljnega raziskovalnega programa, št. V4-0343 in ga finančno podpirata Agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije ter Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano. Za podporo se iskreno zahvaljujemo.

6 LITERATURA

- Ambrožič Turk, B., Mehle, N., Brzin, J., Škerlavaj, V., Seljak, G., Ravnikar, M. 2008. High infection pressure of ESFY phytoplasma threatens the cultivation of stone fruit species. *Journal of Central European Agriculture*, 9, 4: 795-802.
- Carraro, L., Osler, R., Loi, N., Ermacora, P., Refatti, E. 1998. Transmission of European stone fruit yellows phytoplasma by *Cacopsylla pruni*. *J. Plant Pathol.*, 80: 233-239.
- Carraro, L., Osler, R. 2003. European stone fruit yellows: a destructive disease in the mediterranean basin. V: Myrta, A., Di Terlizzi, B., Savino, V. (ur.). *Virus and virus-like diseases of stone fruits, with particular reference to the Mediterranean region*. CIHEAM. Options Mediterraneennes Serie B, 45: 113-117.
- Carraro, L., Ferrini, F., Ermacora, P., Loi, N. 2004. Transmission of European stone fruit yellows phytoplasma to *Prunus* species by using vector and graft transmission. *Acta Hort.*, 657: 449-453.
- Dolenc Šturm, K., Štampar, F., Usenik, V. 1999. Evaluating of some quality parameters of different apricot cultivars using HPLC method. *Acta Alimentaria*, 28: 297-309.
- Hren, M., Boben, J., Rotter, A., Kralj Novak, P., Gruden, K., Ravnikar, M. 2007. Real-time PCR detection systems for Flavescence dorée and Bois noir phytoplasmas in grapevine : comparison with conventional PCR detection and application in diagnostics. *Plant Pathol.*, vol. 56: 785-796
- Lorenz, K.H., Schneider, B., Ahrens, U., Seemüller, E. 1995. Detection of apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA. *Phytopathology* 85: 771-776.
- Pastore, M., Raffone, E., Santonastaso, M., Priore, R., Paltrinieri, S., Bertaccini, A., Simeone, A.M. 2004. Phytoplasma detection in *Empoasca decedens* and *Empoasca* spp. and their possible role as vectors of European stone fruit yellows (16SrX-B) phytoplasma. *Acta Hort.*, 657: 507-511.
- Schneider, B., E. Seemüller, C. D. Smart, and B. C. Kirkpatrick. 1995. Phylogenetic classification of plant pathogenic mycoplasma-like organisms or phytoplasmas, p. 369–380. In S. Razin and J. G. Tully (ed.), *Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology*, vol. 1. Academic Press, San Diego, Calif.
- Seemüller, E., Schneider, B. 2004. 'Candidatus Phytoplasma mali', 'Candidatus Phytoplasma pyri' and 'Candidatus Phytoplasma prunorum', the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 54 (Part 4): 1217-1226.

OBSEG PRENOSA FITOPLAZME AP (*CANDIDATUS PHYTOPLASMA MALI*) V ODVISNOSTI OD NAČINA CEPLJENJA

Mojca LEŠNIK¹, Maja RAVNIKAR², Nataša MEHLE³, Jernej BRZIN⁴, Mario LEŠNIK⁵

¹ KGP RS, Inšpektorat RS za kmetijstvo, gozdarstvo in hrano, Fitosanitarna inšpekcija
Maribor

^{2,3,4} Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo

⁵ Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Maribor

IZVLEČEK

Pri jablanah sedmih sort ('Zlati delišes', 'Idared', 'Braeburn', 'Fuji', 'Gala', 'Elstar' in 'Jonagold') smo preučevali obseg prenosa fitoplazme AP (*Candidatus phytoplasma mali*) z okuženih matičnih dreves na sadike v odvisnosti od načina cepljenja. Sadike gojene v mrežniku, ki je preprečeval dostop žuželk prenašalk AP, smo več let zapored pridobili s cepljenjem na živo oko, izvedenem v februarju, in s postopkom ploščicaste okulacije v začetku avgusta. Skozi vsa obdobja smo sadike natančno opazovali in beležili pojavljanje znamenj okužbe z AP in opravljali laboratorijska testiranja za dokazovanje okuženosti z AP (ELISA in PCR). Povprečni delež okuženih sadik, ugotovljen z uporabo laboratorijskih metod, je bil pri okuliranih sadikah (enoletne 27-46 %, dvoletne 44-51 % in triletne 59 %) podoben kot pri kopuliranih sadikah (enoletne 16-36 %, dvoletne 43-48 % in triletne 52 %). Obseg prenosa AP fitoplazme v zimskem času ni bil statistično značilno različen od obsega pri poletnih cepljenih.

Ključne besede: drevesnica, fitoplazma metličavost jablan "*Candidatus phytoplasma mali*", jablana, prenos bolezni, razmnoževanje

ABSTRACT

TRANSMISSION OF AP PHYTOPLASMA (*CANDIDATUS PHYTOPLASMA MALI*) IN RELATION TO THE METHOD OF PROPAGATION

The transmission rate of Apple proliferation phytoplasma – "*Candidatus phytoplasma mali*" (AP) from infected mother trees to apple tree stocks of seven cultivars ('Golden delicious', 'Idared', 'Braeburn', 'Fuji', 'Gala', 'Elstar' and 'Jonagold') was studied in relation to the methods of propagation. Healthy rootstocks were top-grafted in February or budded in August with different apple cultivars infected with AP phytoplasma and were maintained under greenhouse conditions for four years. During the experiment the infected stocks were identified by laboratory testing of AP phytoplasma, using ELISA and PCR methods, and were monitored for presence of disease symptoms. The average portion of infected stocks detected by laboratory testing in budded stocks (27 - 46% one-year old, 44 - 51% two-year old, 59% three-year old stocks) was similar to the one of grafted stocks (16 - 36% one-year old, 43-48% two-year old, 52% three-year old stocks). The transmission rate obtained by

¹ mag. agr. znan., Vodovodna 34, SI-2000 Maribor

² izr. prof., dr. biol. znan., Večna pot 111, SI-1001 Ljubljana

³ mag. mikrobiol. znan., prav tam

⁴ dr. biol. znan., prav tam

⁵ izr. prof., dr. agr. znan., Vrbanska 30, SI-2000 Maribor

grafting in dormant season did not statistically significantly differ from transmission rate obtained by summer budding.

Key words: Apple, apple nursery stock, Apple proliferation phytoplasma, disease transmission rate, plant propagation

1 UVOD

Metličavost jablan je gospodarsko pomembna bolezen jablan, ki jo povzroča fitoplazma Apple proliferation (AP), (danes *Candidatus* Phytoplasma mali - Seemuller in Schneider, 2004) in je uvrščena na seznam škodljivih organizmov, katerih vnos in širjenje v državah članicah EU sta prepovedana (seznam I.A.II iz priloge I, del A Direktive Sveta št. 2000/29/ES) in na listo karantenskih škodljivih organizmov organizacije EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). Na širšem območju Evrope je kljub temu trajno zastopana. Njeno pojavljanje in širjenje je pod uradno predpisanim nadzorom, kar zlasti velja za drevesnice in matične nasade. V mnogih deželah Evrope je najpomembnejša bolezen jablan (Seemuller s sod., 2003).

V zadnjem desetletju se je obseg okužb s to fitoplazmo v naših nasadih jablan povečal (Seljak in Petrovič, 2001; Petrovič s sod., 2001). Povečal se je tudi obseg okužb v mladih sadovnjakih. Podobno poročajo tudi iz jugozahodne Nemčije (Fried, 2003a, 2003b) in Južne Tirolske (Fried, 2003a; Vindimian s sod., 2003). V preteklosti nismo izvajali sistematično testiranj dreves za dokazovanje okuženosti z AP. Podatki o pojavljanju so bili zbrani le na podlagi vizualnega opazovanja. Postavlja se vprašanje ali se obseg okužb dejansko povečuje ali se je povečal le obseg pojavljanja znamenj na sicer latentno okuženih drevesih. V drevesnicah pred nekaj desetletji nismo opažali velikega števila sadik z dobro izraženimi znamenji okužb, strokovnjaki v starejši literaturi navajajo, da se znamenja le redko pojavijo, medtem, ko v novejši literaturi poročajo, da se bolezen pojavlja tudi v drevesnicah (Petruschke in Rissler, 2003). V zadnjem desetletju se je spremenila tudi intenzivnost pridelovanja sadik jablane (obilno gnojenje z dušičnimi gnojili, obilno in pogosto namakanje, uporaba rastnih regulatorjev, poletno odstranjevanje mladih lističev ob vršičkih...). Tak način pridelovanja lahko izzove pojav znakov okužbe z AP že v drevesnici. V zadnjem času se vse bolj uveljavlja spomladansko cepljenje s kopulacijo na živo oko. Med strokovnjaki prevladuje mnenje, da so možnosti za prenos fitoplazme pri cepljenju na živo oko (kopulacija; odvzem cepičev v januarju ali februarju) manjše kot pri cepljenju na speče oko poleti (okulacija; odvzem očesa v avgustu). Še danes lahko v literaturi zasledimo nasprotujoče si ugotovitve glede obsega prenosa AP fitoplazme pri postopkih pridelave sadilnega materiala. Zato bi bilo potrebno proučiti, kakšen vpliv ima tehnologija vzgoje sadik na obseg prenosa bolezni v naših pridelovalnih razmerah. V obdobju po letu 2000 smo izvedli številne domače poskuse, katerih rezultati še niso bili temeljito predstavljeni in primerjani z rezultati raziskav iz tujine.

2 MATERIAL IN METODE DE LA

Z namenom, da bi proučili vpliv različnih načinov cepljenja (na speče in živo oko) pri vzgoji jablanovih sadik na stopnjo prenosa fitoplazme metličavosti jablan – AP na sadike jablan smo leta 2001 zasnovali poskusno drevesnico. Kot vir cepičev in očes, iz katerih smo vzgajali okužene in zdrave sadike, smo izbrali 14 zdravih in 14 s fitoplazmo metličavosti jablan okuženih matičnih dreves, katera so bila večkrat preverjena glede okužbe z AP z laboratorijskimi metodami (ELISA in PCR) (Brzin in sod., 2003). Proučevali smo sorte: 'Jonagold', 'Zlati delišes', 'Braeburn', 'Elstar', 'Gala', 'Fuji' in 'Idared'. Cepili smo na enoletne VF certificirane podlage EMLA M9, ki so bile brez AP fitoplazme. Zarodni grmi iz katerih so bile odvzete podlage so bili prav tako testirani na AP fitoplazmo.

Pri vsakem od različnih načinov cepljenja (okulaciji, kopulaciji) smo vsako od treh poskusnih let vzgojili veliko število sadik (najmanj 8 pri vsaki od 7 preučevanih sort), ki smo jih nato opazovali in testirali.

Zdrave in okužene sadike smo vzgajali po enaki tehnologiji in jih tri leta vzdrževali v enakih razmerah v poskusni drevesnici. Drevesnica se je nahajala v mrežniku in sadike so bile popolnoma zaščitene pred žuželkami s fino mrežo (luknje 1,5 x 1,5 mm). Sadike smo najmanj šestkrat letno tretirali z insekticidi, z namenom, da smo dodatno preprečili prenos fitoplazme s prenašalci. Poskušali smo čim bolj simulirati pridelavo sadik, kot je običajna v drevesnicah.

Vzorci za izvedbo laboratorijskega testiranja smo tri leta zapored (2001, 2002, 2003) odvzeli v jesenskem obdobju leta (oktober, november). Z vsake sadike smo odvzeli dva ali tri poganjke z vsaj 8 dobro razvitimi listi. Če smo na sadikah opazili kakršna koli znamenja okužbe z metličavostjo, smo v vzorec vključili poganjek z znamenji. V primeru, ko znamenj nismo opazili, smo odvzeli v vzorec prvi terminalni in en ali dva stranska poganjka. Ista sadika je bila testirana večkrat v različni starosti.

Postopki laboratorijskega testiranja, ki so bil uporabljeni, so opisani in objavljeni v članku Brzin in sod. (2003).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Iz preglednice 1 je razvidno, da ni bilo velikih razlik med končnim obsegom prenosa fitoplazme pri zimskih ali poletnih cepljenjih in da ugotovljena stopnja prenosa fitoplazme narašča s starostjo sadik. To pomeni, da z metodami laboratorijskega testiranja nekatere sadike v prvem letu starosti niso bile spoznane za okužene, pozneje, ko je koncentracija fitoplazme v njih narasla, pa smo okuženost z laboratorijskim testiranjem lahko dokazali.

Preglednica 1: Prikaz obsega prenosa AP fitoplazme, ugotovljenega z metodo laboratorijskega testiranja (ELISA in/ ali PCR) v odvisnosti od starosti sadike v času testiranja

Vrsta sadike* in leto cepljenja:	Starost sadike v času testiranja (mesece):	Ugotovljen obseg prenosa fitoplazme s cepljenjem v (%). Vsak podatek je pridobljen na podlagi testiranja 56 sadik.
Oku 2000	15	26,7 %
Oku 2000	27	51,7 %
Oku 2000	39	58,9 %
Kop 2001	9	16,1 %
Kop 2001	21	42,8 %
Kop 2001	33	51,8 %
Oku 2001	15	41,1 %
Oku 2001	27	44,7 %
Kop 2002	9	26,8 %
Kop 2002	21	48,2 %
Oku 2002	15	46,4 %
Kop 2003	9	35,7 %

*Oku - sadike pridobljene s postopkom okulacije; Kop - sadike pridobljene s postopkom kopulacije

Če primerjamo zgolj podatke za končni obseg prenosa (obseg pri najvišji starosti sadik) ugotovimo, da med obema načinoma cepljenja, glede obsega prenosa fitoplazme, ni bilo izrazito velikih razlik. To spoznanje je bilo v nasprotju z našimi pričakovanji, da bo obseg prenosa pri zimskih cepljenjih značilno manjši, kot pri poletnih cepljenjih. V zimskem obdobju naj bi bila populacija živih fitoplazem v nadzemnem delu rastlin izredno majhna

(Schaper in Seemüller, 1982; Seemüller s sod., 1984; Karte in Seemüller, 1988). V poskusih izvedenih v obdobju več kot enega desetletja ali dveh pri postopku kopulacije v času zimskega mirovanja, večinoma sploh niso uspeli prenesti fitoplazme, ali pa je bil prenos majhen, le nekaj odstotkov. Pogosto so bili rezultati večletnih raziskav izredno variabilni. Naši rezultati potrjujejo opazovanja Vindimiana s sodelavci (2003) in Lindnerja (2003), ki sta poročala o visoki stopnji prenosa pri cepljenju v času mirovanja, v primerjavi z obdobjem aktivne rasti rastlin. V novejšem obdobju je Petruschke (2003) izvajal zimsko cepljenja pri sortah 'Idared' in 'Zlati delišes', v okolici mesta Karlsruhe-Augustenberg v enakem obdobju, kot mi. Ugotovili so, da je bil prenos v mili zimi 2000/2001 večji kot v ostri zimi 2001/2002, ko prenosa sploh niso potrdili. Mi smo v enakem obdobju, pri približno primerljivih zimah, dobili bistveno večji prenos pri enakih sortah. Tudi v njihovem poskusu so testiranje sadik po letu dni ponovili, vendar se rezultati pri testiranju v prvem in drugem letu, niso bistveno razlikovali. Tudi ta rezultat se ne ujema z našim, saj smo mi pri laboratorijskem testiranju dveletnih sadik, dokazali večji delež okuženih sadik v primerjavi z enoletnimi. To pomeni, da je koncentracija fitoplazem v letu dni razvoja sadik očitno narasla. Pri enoletni sadiki je bila še pod mejo detekcije, pri dvoletni pa že nad njo. Upoštevati moramo, da smo testirali zgolj listne žile in ne tudi korenin, kjer so koncentracije fitoplazem skozi vse leto bolj izenačene. Po Petruschkejevih ugotovitvah (2003), je mesec marec najbolj varen za odvzem cepičev, kajti takrat so možnosti za prenos fitoplazme najmanjše, še vedno pa niso izključene. Podobne raziskave v zvezi s prenosom fitoplazme s cepljenjem sta delala tudi Pedrazzoli in Filippi (2008). Njune raziskave potrjujejo najnižjo stopnjo prenosa v času jemanja cepičev od marca do maja, nasprotno obseg prenosa AP fitoplazme v naših raziskavah v zimskem času ni bil statistično značilno različen od obsega pri poletnih cepljenjih. Upoštevati moramo, da rezultati različnih raziskav niso vedno neposredno primerljivi med sabo. V naši raziskavi smo pri laboratorijskih testiranjih uporabljali tudi bolj občutljivo PCR metodo, medtem ko sta Pedrazzoli in Filippi (2008) uporabljala le ELISA. Prav tako je bila starost sadik v času testiranja različna, kar bistveno vpliva na rezultat testiranja pojava okužbe. Mi smo testirali starejše sadike.

V preteklosti so na splošno v poskusnih cepljenjih v zimskem času ugotavljali bistveno manjši obseg prenosa fitoplazme, kot to ugotavljamo v obdobju zadnjega desetletja. Mislimo, da sta za to dva osnovna vzroka. Prvi so klimatske spremembe (toplo vreme pozno v jesenske mesece in mile zime), ki povzročajo spremembo fizioloških razmer v floemih dreves v smeri, ki omogoča bistveno večjo stopnjo preživetja fitoplazem. Drugi vzrok lahko iščemo v sistemu izvajanja poskusov v preteklosti in v občutljivosti detekcijskih metod. V mnogih poskusih so sadike pridobljene pri poskusnih cepljenjih opazovali le eno rastno dobo in iz tega skleпали, da niso okužene. Zelo verjetno je v njih bilo le manjše število fitoplazem, ki pa jih niso uspeli detektirati zaradi premalo občutljivih testov. Predvidevamo, da ima na uspeh prenosa AP vpliv izhodiščna koncentracija fitoplazme v cepiču. V našem poskusu smo cepiče jemali na opazno okuženih drevesih na vejah, kjer so bila opazna znamenja in na vejah, kjer znamenj ni bilo mogoče opaziti. Prikazani rezultati prenosa so povprečje obojih razmer. V pridelavi lahko prihaja do tega, da jemljemo cepiče iz latentno okuženih dreves, kjer ni nobenih vidnih znamenj okužbe in je zaradi tega predvidena stopnja prenosa nižja kot v našem poskusu. Pri tovrstnih poskusih je težava tudi v tem, ker nimamo primerljivih koncentracij fitoplazem v floemih dreves oz. cepičev, ki so bili uporabljeni v različnih poskusih. Različno okužen poskusni material (koncentracija fitoplazem v cepiču) lahko vpliva na rezultate poskusov. Po drugi strani pa je pomemben tudi vpliv fizioloških razmer v sadiki glede floemskih razmer za uspešno razmnoževanje fitoplazem. Za uspešno medsebojno primerjanje tovrstnih poskusov bi morali razpolagati s podatki o koncentracijah fitoplazem v izhodiščnem materialu in sadike testirati z enakimi laboratorijskimi metodami.

4 SKLEPI

Na osnovi opravljene raziskave lahko sklepamo:

- V povprečju lahko pri cepljenjih med zimskim mirovanjem (odvzem cepičev konec januarja ali v začetku februarja) v povprečnih slovenskih razmerah, pričakujemo vsaj 52 % prenos AP fitoplazme, pri cepljenih na speče oko (odvzem očes konec julija ali v začetku avgusta) pa 59 % prenos.
- Zgoraj navedeni podatki veljajo za razmere, ki so podobne razmeram v našem poskusu. Pri jemanju cepičev in očes z latentno okuženih dreves je verjetno obseg prenosa AP fitoplazme nekaj manjši.
- Strategija pridelave neokuženih sadik mora temeljiti na uporabi kakovostnega certificiranega razmnoževalnega materiala, na temeljitem večkratnem zatiranju vektorjev, pogosti vizualni kontroli pojava znamenj in laboratorijskem testiranju. Pri jemanju cepičev z matičnih jablanovih dreves v zimskem času se ne moremo zanašati na to, da je obseg prenosa fitoplazme v tistem času majhen.

5 ZAHVALA

Raziskave so potekale v okviru aplikativnega projekta Z4-3290, ki sta ga financirali Ministrstvo za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano RS in Ministrstvo za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo RS.

6 LITERATURA

- Brzin, J., Ermacora, P., Osler, R., Loi, N., Ravnikar, M., Petrovič, N. 2003. Detection of apple proliferation phytoplasma by ELISA and PCR in growing and dormant apple trees. *Journal of Plant Disease and Protection*, 110(5):476-483.
- Fried, A. 2003a. Internationale Arbeitsgruppe Apfeltriebsucht. *Obstbau*, (4): 194-195.
- Fried, A. 2003b. Die Apfeltriebsucht in Nordbaden. *Obstbau Weinbau*, (11): 312-313.
- Karte, S., Seemüller, E. 1988. Variable response within genus *Malus* to the apple proliferation disease. *Zeit. für Pflanzen. und Pflanzenschutz*, 95 (1): 25-34.
- Lindner, L. 2003. Diagnostische Untersuchungen am Baummaterial in Südtirol. *Obstbau Weinbau*, (11): 300-301.
- Schaper, U. in Seemüller, E. 1982. Conditions of the phloem and the persistence of Mycoplasma-like Organisms Associated with apple proliferation and pear decline. *Phytopathology*, 72: 736-742.
- Seemüller, E., Schaper, U., Zimbelmann, F. 1984. Seasonal variation in the colonization patterns of mycoplasma-like organisms associated with apple proliferation and pear decline. *Zeitschrift für Pflanzen und Pflanzenschutz*, 91 (4): 371-382.
- Seemüller, E., Berwarth, C., Dicker, E. 2003. Die Apfeltriebsucht wird durch Blattsauger übertragen. *Obstbau*, 4: 212-214.
- Seemüller, E., Schneider, B. 2004. "Candidatus Phytoplasma mali", "Candidatus Phytoplasma pyri" and "Candidatus Phytoplasma prunorum", the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively. *International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology*, 54: 1217-1226.
- Seljak, G. in Petrovič, N. 2001. Pregled razširjenosti in stanje raziskanosti fitoplazmatskih bolezni vinske trte in sadnega drevja v Sloveniji. *Sodobno kmetijstvo*, 34 (11-12): 466-471.
- Pedrazzoli, F. in Filippi, M. 2008. Apple Proliferation Transmission by Grafting in Different Periods of the Year. *Acta Hort.*, 781: 489-493.
- Petrovič, N., Osler, R., Seljak, G., Brzin, J., Ermacora, P., Loi, N., Carraro, L., Ferrini, F., Reffati, E., Firrao, G., Clair, D., Boudon-Padieu, E., Ravnikar, M. 2001. Prvi rezultati laboratorijskih analiz zastopenosti fitoplazem na sadnem drevju in vinski trti. V: Zbornik predavanj in referatov 5. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, 6-8 marec, 2001, Čatež: 62-63.
- Petruschke, M. 2003. Apfeltriebsucht – Übertragung durch Pfropfungen im Winter. *Obstbau*, (4): 201-202.
- Petruschke, M. in Risser, D. 2003. Apfeltriebsucht – Monitoring in Baumschulen und Erwerbsanlagen Südwestdeutschlands (2001 bis 2002). *Obstbau*, 4: 214-215.

Vindimian, E., Forno, F., Mattedi, L. 2003. Untersuchungen zur Bedeutung der Blattsauger bei der Übertragung der Apfeltriebsucht. *Obstbau*, 4: 207-208.

REZULTATI SPREMLJANJA POJAVA FITOPLAZEM AP (*CANDIDATUS PHYTOPLASMA MALI*) IN PD (*CANDIDATUS PHYTOPLASMA PYRI*) V SLOVENIJI

Mojca LEŠNIK¹, Ema PAVLIČ NIKOLIĆ², Mario LEŠNIK³

^{1,2}MKGP RS, Inšpektorat RS za kmetijstvo, gozdarstvo in hrano, Fitosanitarna inšpekcija
³Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Maribor

IZVLEČEK

Predstavljeni so podatki o pojavljanju fitoplazem povzročiteljic metličavosti jablan (apple proliferation - *Candidatus Phytoplasma mali*) in odmiranja hrušk (pear decline - *Candidatus Phytoplasma pyri*) v drevesnicah in matičnih nasadih, ugotovljeni pri delu fitosanitarne inšpekcije v obdobju od leta 2000 do 2008. Da bi ugotovili fitosanitarni status razmnoževalnega materiala je bilo v drevesnicah in matičnih nasadih odvzetih veliko vzorcev, ki so jih analizirali z uporabo različnih molekularskih PCR detekcijskih metod. Rezultati kažejo na konstantno zastopanost obeh fitoplazem v razmnoževalnem materialu. Pomembno je, da pridelujemo in sadimo neokužene sadike, da s tem zmanjšamo na minimum začetni inokulum povzročiteljev bolezni v sadovnjakih, ker so populacije vektorjev velike in ker je uspešnost zatiranja vektorjev v Sloveniji pogosto premalo učinkovita.

Ključne besede: *Candidatus phytoplasma mali*, *Candidatus phytoplasma pyri*, fitosanitarni ukrepi, jablana, hruška

ABSTRACT

RESULTS OF SURVEILLANCE OF OCCURRENCE OF AP (*CANDIDATUS PHYTOPLASMA MALI*) IN PD (*CANDIDATUS PHYTOPLASMA PYRI*) PHYTOPLASMA IN SLOVENIA

Data on occurrence of apple proliferation disease (c.o. *Candidatus Phytoplasma mali*) and pear decline disease (c.o. *Candidatus Phytoplasma pyri*) in nurseries and plantations of mother trees, carried out by phytosanitary inspection services are presented for the period from 2000 to 2008. Many samples were taken in nurseries and plantations of mother trees and were subjected to different molecular detection PCR methods to evaluate the presence of phytoplasma and the phytosanitary status of propagation material. Results show constant presence of both phytoplasmas on propagation material. It is very important to produce and to plant healthy stocks to minimize the starting inoculum of phytoplasma at planting of new orchards, since vector populations in Slovenia are big and their control is usually not sufficient.

Key words: apple, *Candidatus phytoplasma mali*, *Candidatus phytoplasma pyri*, phytosanitary measures, pear

¹ mag. agr. znan., Vodovodna 34, SI-2000 Maribor

² mag. agr. znan., Opekarniška cesta 2, SI-3000 Celje

³ izr. prof., dr. agr. znan., Vrbanska 30, SI-2000 Maribor

1 UVOD

Povzročiteljici fitoplazmoz metličavosti jablan (v nadaljevanju AP – Apple proliferation – *Candidatus phytoplasma mali*) in odmiranja hrušk fitoplazma (v nadaljevanju PD – Pear decline – *Candidatus phytoplasma pyri*) sta nadzorovana škodljiva organizma s seznama I.A.II iz priloge I, del A Direktive Sveta št. 2000/29/ES in liste karantenskih škodljivih organizmov A2 organizacije EPPO. Obe fitoplazmi sta uvrščeni v skupino fitoplazem apple proliferation. Glavna gostiteljska rastlina AP je jablana (*Malus domestica* Borkh.), medtem ko je gospodarsko najpomembnejša gostiteljska rastlina PD hruška (*Pyrus communis* L.). Posebej nevarni sta zato, ker povzročata velike izgube pridelkov in ker se ju s kemičnimi in biocidnimi sredstvi ne da zatirati. Proti njima se lahko borimo le s preventivnimi ukrepi. Škode, ki jih povzročata so velike in trajne. V primeru okužb s PD navadno delno ali popolnoma propadajo okužena hruševa drevesa, medtem, ko se pri jablanah okuženih z AP soočamo predvsem z veliki izgubami kakovosti pridelka, drevje pa ne propada.

Na osnovi vizualnih opazanj znakov okužb sumimo, da se v Sloveniji PD vedno pogosteje pojavlja že od sedemdesetih let naprej (Vrabl, 1981; Maček, 1986). Z laboratorijskimi postopki je bila potrjena PD v Sloveniji leta 2000 (Seljak in Petrovič, 2001). AP smo v Sloveniji prvič uradno potrdili leta 1985 (Šarič in Cvjetković, 1985) v okolici Ormoža, kjer je bilo v 10 ha sadovnjaku jablan sorte 'Rdeči delišes' najdenih 70 % dreves z značilnimi znamenji. Od tedaj naprej domnevamo, da sta obe fitoplazmi v Sloveniji trajno zastopani. Prenašata se z razmnoževalnim in sadilnim materialom (s cepljenjem) ter naravnimi prenašalci iz skupine bolšic rodu *Cacopsylla* (Homoptera: Psyllidae) na persistenten način (Purcel, 1982). Obstaja velika verjetnost, da je mogoč tudi prenos preko koreninskega sistema med sosednjimi gostiteljskimi drevesi, zlasti v primeru okužb z AP (Lešnik s sod., 2008). Prenašalci fitoplazem iz skupine metličavost jablan, so tako glede mehanizmov prenosa in glede gostiteljskih rastlin, vrstno specializirani (Carraro s sod. 2001; Osler in Ermacora, 2003). V primeru AP so kot naravni prenašalci ugotovljene bolšice *Cacopsylla melanoneura* in *Cacopsylla costalis*, v primeru PD pa je v naših krajih najpomembnejša *Cacopsylla pyri*, medtem ko je *Cacopsylla pyricola* v naših razmerah manj pomemben prenašalec PD, ker se pojavlja pogosto. Z ekološko in integrirano pridelavo sadja se povečujejo populacije naravnih prenašalcev, kar povečuje naravno širjenje fitoplazem. Rastline so le sekundarni in slučajni gostitelji fitoplazem, primarni gostitelji so bolšice. S stališča fitosanitarne kontrole je pomembno stalno nadziranje pridelave sadilnega in razmnoževalnega materiala v drevesnicah, matičnih nasadih in zarodiščih podlag. V primeru najdb okuženih rastlin pa je potrebno hitro in učinkovito odrejanje fitosanitarnih ukrepov. Vzorčenje v objektih za pridelavo sadilnega in razmnoževalnega materiala sadnih rastlin za izvajanje laboratorijskih testov je eden od preventivnih ukrepov za preprečevanje širjenja obeh fitoplazem.

2 MATERIAL IN METODE DE LA

Fitosanitarna inšpekcija pri rednih zdravstvenih pregledih objektov pridelave sadilnega in razmnoževalnega materiala in pooblaščenih uradni pregledniki v postopku uradnega potrjevanja opravljamo zdravstvene preglede v drevesnicah, matičnih nasadih in zarodiščih podlag (v nadaljevanju mesta pridelave) s pripadajočimi varovalnimi pasovi. Inšpekcija opravlja preglede v objektih sadnih rastlin vzgojne stopnje standard, pooblaščenih pregledniki (KIS) pa v objektih pridelave sadnih rastlin vzgojne stopnje osnovni I, II in certificirano. Preglede rodni nasadov in vrtov s sadnimi rastlinami se izvaja v primeru prijav strank o sumu na okužbe. Pri pregledih opazujemo drevesa in sadike na pojav značilnih znamenj okužbe (metlice, rozetavost, povečani prilističi, rdečenje, spremembe listnih robov...). Vzorce

za laboratorijsko testiranje se odvzame, če se opazijo znamenja okužbe z nadzemnih delov rastlin (poganjki) ali pa korenine v primeru vzorčenja na latentne okužbe. Po posebnih zahtevah s seznama IV.A.II. (posebne zahteve v notranjosti in pri uvozu) Direktive Sveta št. 2000/29/ES je predpisano testiranje na pojav AP z indikatorskimi rastlinami. Določila omenjenega predpisa so glede testiranja zastarela, saj so zdaj razvite že mnogo bolj občutljive in hitrejše uradno potrjene laboratorijske detekcijske metode (npr. različne molekularne metode kot je PCR), ki se pri laboratorijskih testih zdaj redno uporabljajo. Najprimernejši čas za vzorčenje je oktober in november, pred odpadanjem listja, ko so koncentracije fitoplazem v nadzemnem delu dreves največje. Vzorce se pošilja v laboratorijsko analizo na NIB, kjer vzorce testirajo z ELISA in/ali molekulskimi PCR testi. Mesta pridelave z gostiteljskimi rastlinami AP in PD inšpektorji in pregledniki pregledamo dvakrat letno, drugi pregled v času jeseni je za opazovanje značilnih znamenj obeh fitoplazmoz bolj ugoden, saj so znamenja bolj izrazita v jesenskem času pred odpadanjem listja.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Število vzorcev po letih se z izjemo leta 2000, ki je bilo začetno leto sistematičnega vzorčenja in leta 2001, ko je bila izvedena širša akcija vzorčenja zaradi preverjanja pojava in razširjenosti AP, bistveno ne razlikuje.

3.1 Rezultati in razprava glede analize pogostosti okužb z AP fitoplazmo

Preglednica 1: Število odvzetih in z laboratorijskimi testi dokazano okuženih vzorcev z AP za obdobje 2000-2008

Število odvzetih vzorcev 2000-2008										
Leta	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	Skupaj
Proizvodni nasadi	14	0	0	0	0	5	2	3	1	25
Mesta pridelave	7	106	82	54	56	60	56	67	53	541
Skupaj	21	106	82	54	56	65	58	70	54	566
Število in odstotek pozitivnih vzorcev 2000-2008										
Proizvodni nasadi	13	0	0	0	0	0	0	0	1	14
Mesta pridelave	6	10	6	9	9	2	2	9	7	60
Skupaj	19 (90,5%)	10 (9,4%)	6 (7,3%)	9 (16,7%)	9 (16,1%)	2 (3,1%)	2 (3,4%)	9 (12,5%)	8 (14,8%)	74 (13,1%)

Po oceni je vsaj polovica vzorcev bila odvzeta za testiranje na latentne okužbe. Pri oceni razmerja med skupnim številom odvzetih in pozitivnih vzorcev je to dejstvo potrebno upoštevati. Opažamo, da obstaja zelo visoka korelacija med pozitivnimi rezultati (potrjena okužba) in pojavom znamenj okužbe na drevesih ali sadikah. Tako da z natančno opravljenim pregledom lahko najdemo okužena drevesa z razvitimi znamenji v visokem odstotku (optimistična ocena tudi do 80 %). Z vzorčenjem na latentne okužbe (ni vizualnih znamenj) lahko le naključno najdemo latentno okužene rastline. V obdobju 2000-2008 je bilo 74 analiziranih vzorcev od skupno 566 odvzetih pozitivnih kar znaša 13 %. Okužbe so bile

najdene na mestih pridelave sadilnega in razmnoževalnega materiala vzgojne stopnje standard ter v rodni nasadih in vrtovih. V nasadih certificiranih sadik, matičnem nasadu osnovne I stopnje in zarodiščih podlag osnovni I stopnje in II stopnje, prisotnost AP ni bila potrjena. Okužbe so bile potrjene po območju celotne Slovenije razpršeno v odvisnosti od mest pridelave.

3.2 Rezultati in razprava glede analize pogostosti okužb z AP fitoplazmo

Izpreglednice 2 je razvidno, da je število odvzetih vzorcev ne glede na leto odvzema večje na mestih pridelave razmnoževalnega materiala, saj je izvajanje nadzora bolj pomembno pri sadilnem in razmnoževalnem materialu, kot v rodni nasadih in vrtovih.

Preglednica 2: Število odvzetih in z laboratorijskimi testi dokazano okuženih vzorcev s PD za obdobje 2004-2008

Število odvzetih vzorcev 2004-2008						
Leta	2004	2005	2006	2007	2008	Skupaj
Proizvodni nasadi-vrtovi	12	4	4	2	5	27
Mesta pridelave	30	29	17	34	27	137
Skupaj	42	33	21	36	32	164
Število in odstotek pozitivnih vzorcev 2004-2008						
Leta	2004	2005	2006	2007	2008	Skupaj
Proizvodni nasadi- vrtovi	10	2	3	2	1	18
Mesta pridelave	10	13	5	3	9	40
Skupaj	20 (47,6%)	15 (45,4%)	8 (38,1%)	5 (13,9%)	10 (31,2%)	58 (35,3%)

Vzorci so bili odvzeti večinoma na sadilnem in razmnoževalnem materialu hrušk kategorije standard. V povprečju od leta 2004 do 2008 je bilo pozitivnih 35 % vzorcev od skupno odvzetih 164. Vzorci so bili odvzeti za laboratorijsko testiranje ob sumu na pojav AP in le v redkih primerih na latentne okužbe. Zaradi tega je tudi odstotek okuženih vzorcev večji kot pri testiranjih na AP. Tudi pri PD opazamo, da se okužbe pojavljajo po celotni Sloveniji v odvisnosti od lokacij rastišč hruške. Problem pri preprečevanju širjenja je pojav naravnih prenašalcev, pri katerih se razvija odpornost na fitofarmaceutska sredstva in pomanjkanje sredstev za zatiranje v primeru ekološke in integrirane pridelave. Pri izvajanju vzorčenj v drevesnicah opazamo na sadikah značilna znamenja za okužbo s PD, vendar laboratorijski testi okužbe vedno ne potrdijo. Sadike imajo lahko podobna znamenja v primeru drugih fizioloških motenj, kot so slabo zrasla mesta med podlago in cepičem, prevezana sadika s stisnjenimi prevodnimi cevmi, inkompatibilnost med podlago in cepičem, neustrezna reakcija tal in podobno, ki učinkujejo na podoben način kot motnje zaradi okužbe s PD.

Obseg pojavljanja PD fitoplazme v Sloveniji ni povsem dokumentiran. Glede na vizualna opazovanja v naravi se zdi, da je fitoplazma veliko bolj razširjena, kot kažejo rezultati vzorčenja in testiranja (Lešnik, 2008).

Lahko rečemo, da je obseg nadzora razmnoževalnega materiala v pogledu odkrivanja okužb in zagotavljanja ustrezne kakovosti zadovoljiv. S tega stališča izvajamo ustrezne ukrepe za omejevanje širjenja AP in PD. Stopnje okuženosti nasadov so dokaj visoke, kljub temu, da sadimo kakovosten sadilni material. Pri praktičnem delu ugotavljamo, da zelo verjetno nismo dovolj učinkoviti pri omejevanju populacij vektorjev. Pri AP je potrebno največjo pozornost nameniti populacijam vrste *C. melanoneura*. Ta bolšica se iz gozdov seli v nasade že zgodaj spomladi v začetku marca, to je bolj zgodaj, kot začnemo s škroplilno sezono pri jablanah. Osnovno strokovno vprašanje v zvezi z zatiranjem bolšic je, kako široko je zatiralno okno? Po navedbah iz starejše literature bolšice v trenutku, ko se preselijo iz gozdov še niso sposobne prenašati AP fitoplazme, kljub temu, da jo lahko imajo v hemolimfi še iz jesenskega obdobja prejšnjega leta (Frisinghelli s sod., 2000; Carraro s sod., 2001; Tedeschi s sod., 2002, 2003; Seemüller s sod. 2003, Jarausch s sod., 2003, 2004). Nekaj časa se morajo hraniti (akvizicijsko in celacijsko obdobje) in šele nato, ko se tudi floemi dreves aktivirajo, lahko prenašajo fitoplazmo. Danes nekateri teh ugotovitev ne podpirajo več popolnoma in puščajo tudi možnost, da lahko bolšice v določenem obsegu prenašajo AP fitoplazmo takoj, ko se preselijo (Jarausch s sod., 2007; Carraro s sod., 2007, Tedeshi in Alma, 2007; Pedrazzoli s. sod., 2007). Če to drži tudi za naše razmere, je potrebno biti previden in opraviti dvoje nanosov insekticidov proti njim. Enega v začetnem obdobju preleta in še enega pozneje ob klasičnem predspomladanskem škropljenju. Takšna taktika, je še posebej priporočljiva za objekte pridelave razmnoževalnega materiala.

Pri PD so razmere glede zatiranje vektorjev še bistveno težje, saj je vektor (*C. pyri*) sposoben prenašati PD fitoplazmo večji del rastne dobe (vsaj 9 mesecev). Med rastno dobo je potrebno pri izbiri insekticidov upoštevati vse integrirane strategije za upočasnjevanje pojavov odpornosti na insekticide. Eden od dodatnih ukrepov je tudi uporaba insekticidov pred zimskim mirovanjem. S tem in zgodnjo spomladansko uporabo insekticidov zmanjšamo možnost zgodnjih spomladanskih reinfekcij dreves. Pri hruškah cepljenih na kutino ima obseg spomladanskih reinfekcij z bolšicami zelo velik vpliv na stopnjo izražanja bolezenskih znamenj. Morda je bolje več insekticidov uporabiti zgodaj spomladi in jeseni, kot pa med letom.

4 SKLEPI

Glede na rezultate opravljenih pregledov za obdobje 2000-2008 lahko trdimo, da sta obe fitoplazmi AP in PD trajno zastopani na območjih ugodnih za pridelavo sadnih gostiteljskih rastlin v Sloveniji. Na mestih pridelave sadilnega in razmnoževalnega materiala vzgojne stopnje standard sta zastopani in nadzorovani, ukrepi zatiranja se redno izvajajo. V objektih za pridelavo sadilnega in razmnoževalnega materiala vzgojne stopnje certificirano in osnovni matični nasadi, še niso bile potrjene, kljub vsakoletnim laboratorijskim testom in vizualnim pregledom, kar kaže na ustrezno kakovost certificiranega razmnoževalnega materiala. Zavedati se moramo, da sajenje sicer zdravih neokuženih sadik ne da rezultatov, če jih sadimo v okolje, kjer je velik vektorski kužnostni potencial, zaradi katerega so lahko naši nasadi latentno okuženi in kot taki, ne nudijo podlage za ekonomsko uspešno pridelovanje sadja.

5 LITERATURA

- Carraro, L., Osler, R., Loi, N., Ermacora, P., Refatti, E. 2001.- Fruit tree phytoplasma diseases diffused in nature by psyllids.- *Acta Horticulturae*, 550: 345-350.
- Direktiva Sveta št. 2000/29/ES; Seznam I.A.II in IV.A.II.
- Frisinghelli, C., Delaiti, L., Grandi, M. S., Forti, D., Vindimidian, M. E. 2000.- *Cacopsylla costalis* (Flor, 1981) as a vector of Apple Proliferation in Trentino.- *Journal of Phytopathology*, 148: 425-431.

- Jarausch, B., Schwind, N., Jarausch W., Krczal, G., Seemüller, E., Dickler, E. 2003.- First report of *Cacopsylla picta* as a vector for apple proliferation phytoplasma in Germany.- *Plant Disease*, 87: 101.
- Jarausch, B., Schwind, N., Jarausch W., Krczal, G. 2004.- Overwintering adults and springtime generation of *Cacopsylla picta* (synonym *C. costalis*) can transmit apple proliferation phytoplasmas.- *Acta Horticulturae*, 657: 409-413.
- Jarausch, B., Fuchs, A., Schwind, N., Krczal, G., Jarausch W. 2007 *Cacopsylla picta* as most important vector for 'Candidatus Phytoplasma mali' in Germany and neighbouring regions. *Bulletin of Insectology* 60 (2): 189-190, 2007
- Lešnik, M., Brzin, J., Mehle, N., Ravnihar, M. 2008. Transmission of Candidatus phytoplasma mali by natural formation of root bridges in M9 apple rootstock. *Agricultura*, 6, 43-46.
- Lešnik, M. 2008. Arhiv fitosanitarne inšpekcije. Strokovno mnenje glede ukrepov pri najdbah hruševih dreves okuženih s fitoplazmo Pear decline, Maribor, 10 s.
- Maček, J. 1986. Posebna fitopatologija: Patologija sadnega drevja in vinske trte. Ljubljana, Univerza v Ljubljani: 276 str.
- Pedrazzoli, F., Gualandri, V., Forno, F., Mattedi, L., Malagnini, V., Salvadori, A., Sttoppa, G., Ioriatti, C. 2007. Acquisition capacities of the overwintering adults of the psyllid vectors of 'Candidatus Phytoplasma mali' *Bulletin of Insectology* 60 (2): 195-196,
- Purcell, A. H. 1982. Insect vector relationship with prokaryotic plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 20: 397-427.
- Seljak, G. in Petrovič, N. 2001. Pregled razširjenosti in stanje raziskanosti fitoplazmatskih bolezni vinske trte in sadnega drevja v Sloveniji. *Sodobno kmetijstvo*, 34 (11-12): 466-471.
- Seemüller, E., Berwarth, C., Dicker, E. 2003. Die Apfeltriebsucht wird durch Blattsauger übertragen. *Obstbau*, 4: 212-214.
- Šarić, A. in Cvjetković, B. 1985. Nalaz mikoplazmama sličnih organizama u jabuci sa simptomima proliferacije i kruški sa simptomima propadanja. *Znanstvene edicije Fakulteta poljoprivrednih znanosti sveučilišta u Zagrebu*, 68: 61-67.
- Tedeschi, R., Bosco, D., Alma, A. 2002.- Population dynamics of *Cacopsylla melanoneura* (Homoptera: Psyllidae), a vector of apple proliferation phytoplasma in Northwestern Italy.- *Journal of Economic Entomology*, 95: 544-551.
- Tedeschi, R., Visentin, C., Alma, A. Bosco, D., 2003.- Epidemiology of apple proliferation (AP) in northwestern Italy. Evaluation of the frequency of AP-positive in naturally infected populations of *Cacopsylla melanoneura* (Homoptera: Psyllidae).- *Annals of Applied Biology*, 142: 285-290.
- Tedeschi, R. in Alma, A. 2007. Transmission of Apple Proliferation Phytoplasma by *Cacopsylla melanoneura*. *Journal of Economic Entomology*, 97, 1:8-13.
- Vrabl, S. 1981. Varstvo sadnih rastlin in vinske trte. Univerza v Mariboru, 138 str.

ZNOTRAJVRSTNA RAZNOLIKOST FITOPATOGENE GLIVE *Monilinia laxa* IN RAZVOJ SPECIFIČNE DETEKCIJSKE METODE

Tjaša GRIL¹, Franci CELAR², Branka JAVORNIK¹, Jernej JAKŠE¹

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za genetiko, biotehnologijo, statistiko in žlahtnjenje rastlin, Ljubljana

²Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, travništvo in pašništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

Leta 1997 so v sadovnjaku Resje na Gorenjskem opazili na jablanah nenavadne simptome venenja poganjkov. Izolacija patogena je potrdila kot povzročitelja fitopatogeno glivo *Monilinia laxa*. Poznejše umetne inokulacije so pokazale na možnost obstoja specializirane forme (*Monilinia laxa* f. sp. *mali*). AFLP metoda omogoča iskanje polimorfizmov znotraj ozko sorodnih organizmov. Z omenjeno metodo smo analizirali 67 izolatov glive *M. laxa* iz različnih gostiteljev (15 jablanovih izolatov in 52 izolatov iz koščičarjev) ter z uporabo različnih statističnih orodij poskušali potrditi domneve o obstoju specializirane forme. Na osnovi nukleotidnega zaporedja specifičnih fragmentov, ki se namnožujejo pri jablanovih izolatih smo izdelali hitro in zanesljivo diagnostično metodo za razlikovanje specializirane forme. Specializirana oblika glive ima podobna bolezenska znamenja kot karantenska bakterija *Erwinia amylovora* (hrušev ožig). Tako bi uspešno izdelani markerji služili kot nedvoumen test za razlikovanje glivnih oz. bakterijskih okužb v kratkem časovnem intervalu. V praksi bi se lahko izognili nepotrebnim sankcijam na terenu.

Ključne besede: diagnostika, molekularski markerji, *Monilinia laxa*, forma *specialis*, znotrajvrstna variabilnost

ABSTRACT

INTRASPECIFIC VARIABILITY OF THE PLANT PATHOGENIC FUNGUS *Monilinia laxa* AND THE DEVELOPMENT OF A RELIABLE DIAGNOSTIC METHOD

Unusual symptoms of apple shoots dying were observed in 1997 in Resje, Gorenjska. Artificial inoculation suggested the possible existence of a specialized form (*Monilinia laxa* f. sp. *mali*). AFLP method is often used for detecting polymorphisms among closely related species. We report here on the results of AFLP analysis of 67 fungal isolates from various hosts (15 from apples, 52 from stone fruits). Using various statistical tools, apple isolates were clearly distinguished from others, confirming the possible existence of a specialized form. Selected polymorphic bands, amplified only in apple isolates were sequenced and transformed to SCAR markers with the aim of developing a rapid and unambiguous diagnostic tool for detecting the specialized. Such markers would be advantageous since *M. laxa* f.sp. *mali* causes similar symptoms as the quarantine bacterium *Erwinia amylovora* (fire blight) and the availability of a reliable test for rapidly distinguishing between fungal and bacterial infections would prevent unnecessary measures in orchards.

Key words: diagnostics, molecular markers, *Monilinia laxa*, forma *specialis*, intraspecific variability

1 UVOD

Znotraj relativno velikega rodu fitopatogenih gliv *Monilinia* se zaradi pogostosti pojavljanja in posledično visoke gospodarske škode, ki jo povzročajo izpostavljaajo tri vrste, ki jih poimenujemo glive rjave gnilobe. Ime v grobem opiše tudi najznačilnejše bolezensko znamenje, na okuženem sadnem drevju, gnilobo plodov. To so *Monilinia laxa* (Aderh. & Ruhland) Honey, *M. fructigena* Honey in *M. fructicola* (G. Winter) Honey (Byrde in Willetts, 1991). Leta 1997 so v sadovnjakih na Gorenjskem opazili nenavadno venenje in sušenje jablanovih dreves. Povzročitelja so identificirali kot vrsto *M. laxa*. Po umetnem okuževanju naslednje leto so zaradi pojava bolezenskih znamenj le na jablanah, posumili na obstoj specializacije, vezane na gostiteljske rastline patogena (Celar in Valič, 1999). V literaturi se omenja specializirana forma glive, *M. laxa* f.sp. *mali* Harrison{?}, najdene samo na jablani, kjer povzroča sušenje cvetov, odmiranje poganjkov in raka, o čemer poročajo tudi mikologi in fitopatologi iz Rusije in Indije (Byrde in Willetts, 1977; Sharma, 1987).

Vrste rodu *Monilinia* so vrsto let ločevali na podlagi standardnih fitopatoloških metod, vendar se nekateri morfološki kriteriji med seboj prekrivajo, zato niso dovolj zanesljive za rutinsko uporabo. Razvijali so alternativne metode kot so izoencimska analiza in vpliv dolgovalovnega UV sevanja na rast kolonij (Byrde in Willetts, 1977, De Cal in Melgarejo, 1999). Na PCR temelječa diagnostika je služila predvsem za ločevanju vrste *M. fructicola* od drugih dveh vrst oz. vrste *M. laxa* od vrste *M. fructicola* (Ioos in Frey, 2000, Hughes in sod., 2000). Študije genetske variabilnosti znotraj rodu so redko opravljene oziroma jih sploh ni.

V namene molekularne diagnostike služijo metode različnih molekularnih markerjev (Deacon, 2006). Na osnovi objavljenih študij posameznega markerskega sistema smo predvideli, da bi z metodo dolžinskega polimorfizma namnoženih fragmentov (angl. Amplified Fragment Length Polymorphism; AFLP) dobili natančne odgovore na naša vprašanja. Je robustna in učinkovita metoda pri analizah ozko sorodnih organizmov, aplicirana do sedaj že na vrsti biotičnih sistemov in zagotavlja visoko ponovljivost.

Osnovni namen študije je bil oceniti stopnjo diverzitete znotraj vrste *M. laxa*, raziskati nepojasnjeno znotrajvrstno specializacijo ter razviti diagnostično metodo, s katero bi lahko nedvoumno ločevali patogena glede na gostiteljski izvor.

2 MATERIALI IN METODE

Vključili smo 67 izolatov glive *M. laxa*. Večino, 49 izolatov, smo s sistematičnim vzorčenjem koščičarjev in pečkarjev po sadovnjakih v Sloveniji pridobili spomladi leta 2006. Enajst izolatov smo dobili iz mikološke zbirke Kmetijskega inštituta Slovenije. Sedem jih je bilo iz tujine: štirje izolati neznanega gostitelja iz Japonske in trije iz glivne banke CBS na Nizozemskem. V AFLP analizi je bilo osemnajst češnjevih (*Prunus avium*), sedemnajst mareličnih (*Prunus armeniaca*), petnajst jablanovih (*Malus domestica*), štiri izolate iz japonske češnje (*Prunus serrulata*), trije izolati iz kutine (*Cydonia oblonga*), dva breskova (*Prunus persica*), dva slivova izolata, (*Prunus domestica*), po eden izolat iz divje jablane (*Malus sylvestris*) in japonske marelice (*Prunus mume*) ter štirje izolati neznanega gostitelja. Glivno kulturo smo vzpostavili v aseptičnih razmerah s prenosom konidijev na PDA (Biolife Italiana, Italija) gojišče. Po 14 dnevih smo na osnovi morfoloških karakteristik potrdili zeleno vrsto in po 3 agarne čepke z micelijem v premeru 4 mm prenesli v 150 ml erlenmajerice s tekočim gojiščem iz sladu (Merck KGaA, Nemčija).

Celokupno genomsko DNA smo izolirali s CTAB metodo povzeto po Kump in sod. (1992) z dodatnim večkratnim čiščenjem z organskim topilom. Izoliranim vzorcem smo vrstno pripadnost potrdili še s PCR detekcijo (Hughes in sod., 2000; Ioos in Frey, 2000).

Za AFLP analizo smo uporabili prvotno objavljeni protokol (Vos in sod., 1992) z minimalnimi modifikacijami (Radišek in sod., 2001). Elektroforegrame smo vrednostili s program Allele Locator 1.03 (Amersham Biosciences, ZDA) in izdelali binarno matriko (zastopanosti (1) oz.

nezastopanosti (0)). Monomorfne markerje smo izločili iz nadaljnje obdelave podatkov. Določili smo vse lokuse, ugotovili njihove dolžine ter na osnovi polimorfnihih lokusov izračunali odstotek polimorfizma, določili smo tudi število vseh lokusov in število polimorfnihih lokusov za posamezen izolat in poiskali specifične DNA fragmente, ekskluzivno jablanove ali zastopane samo pri drugih izolatih. Z računalniškim programom NTSYSpc 2.02 (Rohlf, 1998) smo na osnovi dobljene binarne matrike izračunali Dice-ove koeficiente genetske podobnosti. Za grafično predstavitev združevanja vzorcev smo na osnovi izračunanega koeficienta podobnosti z UPGMA metodo izdelali dendrogram. Zanesljivost izračunane topologije smo preverili z uveljavljeno Felsensteinovo (1985) metodo, s samovzorčenjem (angl. bootstrapping) s TreeCon programom (Van de Peer in De Wachter, 1994). S PCO analizo smo poskušali predstaviti geometrijske razdalje med posameznimi vzorci. Dice-ova matriko podobnosti smo vnesli v programske module NTSYS-pc programa (DCENTER, EIGEN in MXPLOT) ter rezultate predstavili v grafikonu. Za preučevanje populacijske genetske strukture smo uporabili računalniški program STRUCTURE (Pritchard in sod., 2000). Znana je prekomerna ocenitev števila skupin (K), kar je Evanno s sodelavci (2005) korigiral s predlagano vrednostjo po meri ΔK . Predpogoj za analizo molekularne variance je predpostavljena logična struktura vzorcev, testira se le signifikantnost hipoteze o njenem obstoju (Excoffier in sod., 1992). Analizirane izolate smo razdelili: 1) jablanovi izolati (15 izolatov) in vsi ostali izolati (52 izolatov), 2) jablanovi izolati (15 izolatov) in češnjevski izolati (18 izolatov), 3) jablanovi izolati (15 izolatov) in marelični izolati (18 vzorcev), ter češnjevski in marelični izolati ter izvedli smo štiri neodvisne AMOVA teste, kjer smo preverjali ničelno hipotezo o neobstoju statistično značilne razlike med njimi. Analizo smo opravili s programom Arlequin (Schneider in sod., 2000).

Razvoj diagnostične metode, ki je temeljila na pretvorbi specifičnih AFLP fragmentov v preprostejše, sekvenčno okarakterizirane namnožene regije vključuje ponovno namnoževanje specifičnih fragmentov (ekskluzivnih jablanovih ali fragmentov iz drugih izolatov), detekcijo na poliakrilamidnem gelu z barvanjem s srebrom, kloniranje, določevanje nukleotidnega zaporedja in izdelavo specifičnih parov začetnih oligonukleotidov ter optimizacija pomnoževanja v PCR.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

Pri genotipizaciji 67-ih izolatov smo namnožili 1089 ločenih fragmentov. Največje število fragmentov (96) se je namnožilo pri kombinaciji E-GA+M-AT, najmanjše (33) pri E-GT kombinaciji z dvema različnima M-selektivnima začetnima oligonukleotidoma (M-CG, M-GA). V povprečju smo odkrili 54,5 AFLP markerjev na kombinacijo velikostnega razreda od 50 do 745 baznih parov. Detektirali smo 354 (32,5%) polimorfnihih fragmentov, v povprečju 17,7 na par začetnih oligonukleotidov, najvišje število polimorfnihih fragmentov (29) se je namnožilo pri kombinaciji E-GA+M-AT, najmanj (4) pa pri kombinaciji E-GT+M-CG. Odkrili smo 23 specifičnih AFLP fragmentov velikosti od 62 do 583 bp, ki so se namnožili ekskluzivno pri jablanovih izolatih. Manj, 12, specifičnih AFLP fragmentov velikosti med 55 in 576 bp se je namnožilo pri izolatih iz drugih gostiteljev. Združevanje vzorcev z UPGMA metodo je potrdilo obstoj dveh glavnih skupin izolatov glede na gostiteljski izvor, na jablanove in vse ostale izolate. Znotraj obeh podskupin je sicer opažena variabilnost, vendar nadaljnega združevanja glede na geografski ali gostiteljski izvor nismo opazili.

Izrazito diferenciacijo UPGMA klusterske analize smo potrdili tudi z 2-dimenzionalnim PCO razsevnim grafikonom. Nadaljnega razvrščanja znotraj skupin nismo opazili. Enako je ustrezna korekcija z ΔK statistiko (Evanno, 2005) v programu STRUCTURE analizirane izolate razdelila v dve jasno definirani skupini. Na osnovi rezultatov AMOVA testa smo povzeli, da se jablanovi izolati statistično značilno razlikujejo od izolatov marelic in češenj, medtem ko med slednjima ni razlik. S tem naša domnevanja o obstoju specializirane forme še dodatno potrdimo.

S Primer 3.0 (Rozen in Skaletsky, 2000) programom smo skonstruirali 61 specifičnih parov začetnih oligonukleotidov za SCAR markerje, 33 specifičnih za jablanove izolate in 28 specifičnih za vse ostale izolate. Specifičnost namnoževanja sta ohranila dva jablanovo (#9 in #60) in eden (# 33) par začetnih oligonukleotidov za ostalo skupino izolatov.

4 SKLEPI

V naši raziskavi smo prvič uporabili AFLP metodo na izolatih vrste *M. laxa* iz različnih gostiteljev ter jo tudi optimizirali za omenjeno vrsto. Rezultati apliciranih klusterskih analiz (UPGMA, PCO) potrjujejo obstoj dveh skupin glivnih izolatov znotraj celotne skupine. Manjšo skupino kamor se je nedvoumno in z visoko vrednostjo samovzorčenja razvrstilo 13 od 15 jablanovih izolatov ter večjo skupino, kjer se je razvrstilo vseh ostalih 54 izolatov. Nadaljnje geografsko ali drugo razvrščanje ni bilo opaženo. Z uporabo na Bayesovem algoritmu temelječe računalniške programske opreme Structure lahko le potrdimo dognanja predhodnih klusterskih analiz. AMOVA analiza je potrdila naše predhodne hipoteze o obstoju določene stopnje variabilnosti med izolati glede na izvor različnih gostiteljev.. V našem primeru lahko potrdimo, da smo uspešno izvedli pretvorbo AFLP markerjev v diagnostične SCAR markerje, vendar smo nekoliko izgubili pri specifičnosti namnoževanja, čemur bomo v prihodnjem posvetili več pozornosti, saj so specifičnost ohranili le trije markerji. Razvita diagnostična metoda bo omogočala hitro in nedvoumno potrjevanje dednine jablanovih izolatov ter preprečevala napačne identifikacije in radikalne posege v pridelovanju sadja ob morebitnem ponovnem izbruhu karantenske bakterije *Erwinia amylovora*, ki povzroča hrušev ožig.

5 LITERATURA

- Celar F., Valič N. 1999. Pojav glive *Monilinia laxa* f. sp. *mali* v Sloveniji. V: Zbornik predavanj in referatov 4. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Portorož, 3.-4. marec 1999. Društvo za varstvo rastlin: 485-488
- De Cal A., Melgarejo P. 1999. Effects of long-wave UV light on *Monilinia* growth and identification of species. *Plant Disease*, 83, 1: 62-65
- Deacon J. 2006. *Fungal Biology*. 4. izdaja. Oxford, Blackwell Publishing: 372 str.
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 8: 2611-2620
- Excoffier L., Smouse P.E., Quattro J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 2: 479-491
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 4: 783-791
- Hughes K.J.D., Fulton C.E., McReynolds D., Lane C. R. 2000. Development of new PCR primers for identification of *Monilinia* species. *EPPO Bulletin*, 30, 3-4: 507-511
- loos R., Frey P. 2000. Genomic variation within *Monilinia laxa*, *M. fructigena* and *M. fructicola*, and application to species identification by PCR. *European Journal of Plant Pathology*, 106, 4: 373-378
- Kump B., Svetek S., Javornik B. 1992. Izolacija visokomolekularne DNA iz rastlinskih tkiv. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani – Kmetijstvo, 59: 63-66
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 2: 945-959
- Radišek S., Jakše J., Javornik B. 2001. Optimisation of amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis of hop wilt (*Verticillium alboatrum* and *Verticillium dahliae*). Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani – Kmetijstvo, 77, 2: 136-146
- Rohlf F.J. 1998. NTSYS: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 2.02. Exeter software, New York, Setauket, 2 disketi.

- Rozen S., Skaletsky H.J. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. V: Krawetz S., Misener S. (ur.) Bioinformatics methods and protocols: Methods in Molecular Biology. Totowa, Humana Press: 365-386
- Sharma R.L., Kaul J.L. 1987. Blossom blight and fruit rot of apple. Indian Journal of Plant Pathology, 19, 2: 208-211
- Van de Peer Y., De Wachter Y. 1994. TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment. Computer Applications in the Biosciences, 10, 5: 569-570
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research, 23, 21: 4407-4414

FENOLNE SNOVI KOT ODZIV JABLANE NA OKUŽBO Z JABLANOVIM ŠKRLUPOM (*Venturia inaequalis*)

Maja MIKULIČ PETKOVŠEK¹, Franci ŠTAMPAR², Robert VEBERIČ³

^{1,2,3}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za sadjarstvo, vinogradništvo in
vrtinarstvo, Ljubljana

IZVLEČEK

V raziskavi smo proučevali, ali okužba z jablanovim škrlupom na listih in plodovih jablane povzroči spremembo v vsebnosti določenih fenolnih spojin. Okužba z glivo *Venturia inaequalis* je spremenila metabolizem fenolnih spojin tako, da se je povečala njihova sinteza v okuženih delih listov in kožice. Kožica plodov in listi okuženi z *V. inaequalis* kažejo v primerjavi z zdravim tkivom več kot štirikrat večjo vsebnost klorogenske kisline, 1 do 3 krat več katehina, 2 do 4 krat več epikatehina ter do 4,4 krat več rutina in kvercitrina. Zaradi večje vsebnosti posameznih fenolov, je bila tudi vsebnost skupnih fenolov v okuženem tkivu 1,1 do 2,4 krat večja kot v zdravih listih in plodovih.

Ključne besede: fenolne spojine, jablanov škrlup, listi, obrambni mehanizem, plodovi

ABSTRACT

PHENOLIC COMPOUNDS AS RESPONSE TO APPLE SCAB (*Venturia inaequalis*) INFECTION

The aim of the research was to determine the changes of some phenolic compounds in the leaves and apple fruits infected with apple scab. Infection with the *Venturia inaequalis* fungus changed the metabolism of phenolic compounds, which caused their increased synthesis at the infected sites of leaves and peel. In comparison to the healthy tissue, the peel of fruit and leaves infected with *V. inaequalis* showed a more than 4-fold increase in chlorogenic acid, 1 to 3 times more catechin, 2 to 4 times more epicatechin and up to 4.4 times more rutin and quercitrin. Owing to the increased quantity of single phenolics, the content of total phenolics in the infected tissue was 1.1 to 2.4 times higher than in the healthy leaves and fruit.

Key words: apple scab, defence mechanism, fruits, leaves, phenolic compounds

1 UVOD

Kemični, mehanski ali biotični stres spremeni fenolni metabolizem jablane. Fenolne spojine so vključene v naravne obrambne reakcije jablane (*Malus domestica* Borkh.) proti številnim boleznim. Rastline se na okužbo odzovejo s sintezo fenolnih snovi, še posebej s fenolnimi kislinami. Fenolne kisline (klorogenska, *p*-kumarna in kavina kislina) preprečijo širitev patogena z lignifikacijo poškodovanih površin (Treutter, 2001).

Pri jablani imajo flavonoli in flavan-3-oli posebno funkcijo pri odpornosti proti glivi *V. inaequalis* (Treutter in Feucht 1990 a, b). V tkivih jablan, okuženih z glivo *V. i.* so ugotovili akumulacijo flavan-3-olov (epikatehina, procianidina B2, procianidina B5 in procianidina E-B5) (Treutter in Feucht, 1990a).

¹ dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² prof. dr., prav tam

³ doc. dr., prav tam

V raziskavi smo poskušali ugotoviti, ali okužba z jablanovim škrlupom na listih in plodovih jabolane povzroči spremembo v vsebnosti določenih fenolnih spojin.

2 MATERIAL IN METODE

V poskus, ki je potekal v letih 2005 in 2006 na lokacijah Ljubljana in Maribor, so bila vključena šestletna drevesa sort 'Zlati delišes' in 'Jonagold' cepljena na podlago M9. Kljub temu, da je bilo izvajano redno kemično varstvo dreves proti boleznim, so se na listih ter na plodovih pojavili posamezni simptomi okužbe z jablanovim škrlupom. Izbrali smo 20 dreves, od tega smo na desetih drevesih nabirali samo zdrave liste in plodove, na ostalih desetih pa s škrlupom okužene liste in plodove. Liste smo vzorčili 5 do 7-krat v sezoni, medtem ko smo plodove nabirali v času tehnološke zrelosti. Nabrane liste in plodove smo zamrznili v tekočem dušiku in jih shranili v zamrzovalniku pri -20°C . Iz okuženega tkiva na listih kot tudi na kožici plodov smo izrezali pege z 1-2 mm pasom zdravega tkiva.

Ekstrakcijo fenolov smo izvedli po metodi Escarpa in Gonzalez (2000). Vsebnost posameznih fenolov smo analizirali na HPLC-PDA sistemu (kolona Phenomenex Gemini C18), vsebnost skupnih fenolov spektrofotometrično (765 nm) po metodi s Folin-Ciocalteujevim reagentom (Singleton in Rossi, 1965) ter antioksidativno aktivnost (520 nm) po DPPH metodi (Brand-Williams in sod., 1995). Podatke smo statistično obdelali s programom Statgraphic Plus 4.0. Uporabili smo enosmerno analizo variance ($p < 0,05$).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Vsebnosti fenolnih spojin v listih sorte 'Jonagold' v letu 2006 so prikazane v preglednici 1 ter njihove vsebnosti v kožici plodov za obe leti v sliki 1.

Vsebnosti floridzina so bile v zdravih listih od 37,7 do 66,1 mg/g DW. Podobne vsebnosti navajajo tudi Mayr (1995, cit. po Treutter, 2001) ter Leser in Treutter (2005). Okuženi listi so vsebovali statistično več floridzina v primerjavi z zdravimi listi, do 2,8 krat več. Zdravo tkivo kožice je imelo značilno manjše vrednosti floridzina v primerjavi z okuženim tkivom. Vrednosti floridzina v zdravi kožici so bile do 2,3 krat manjše kot na pegi. Kot kažejo naši rezultati se ob okužbi z glivo *Venturia inequalis* sintetizira več floridzina, kar sta potrdila tudi Leser in Treutter (2005).

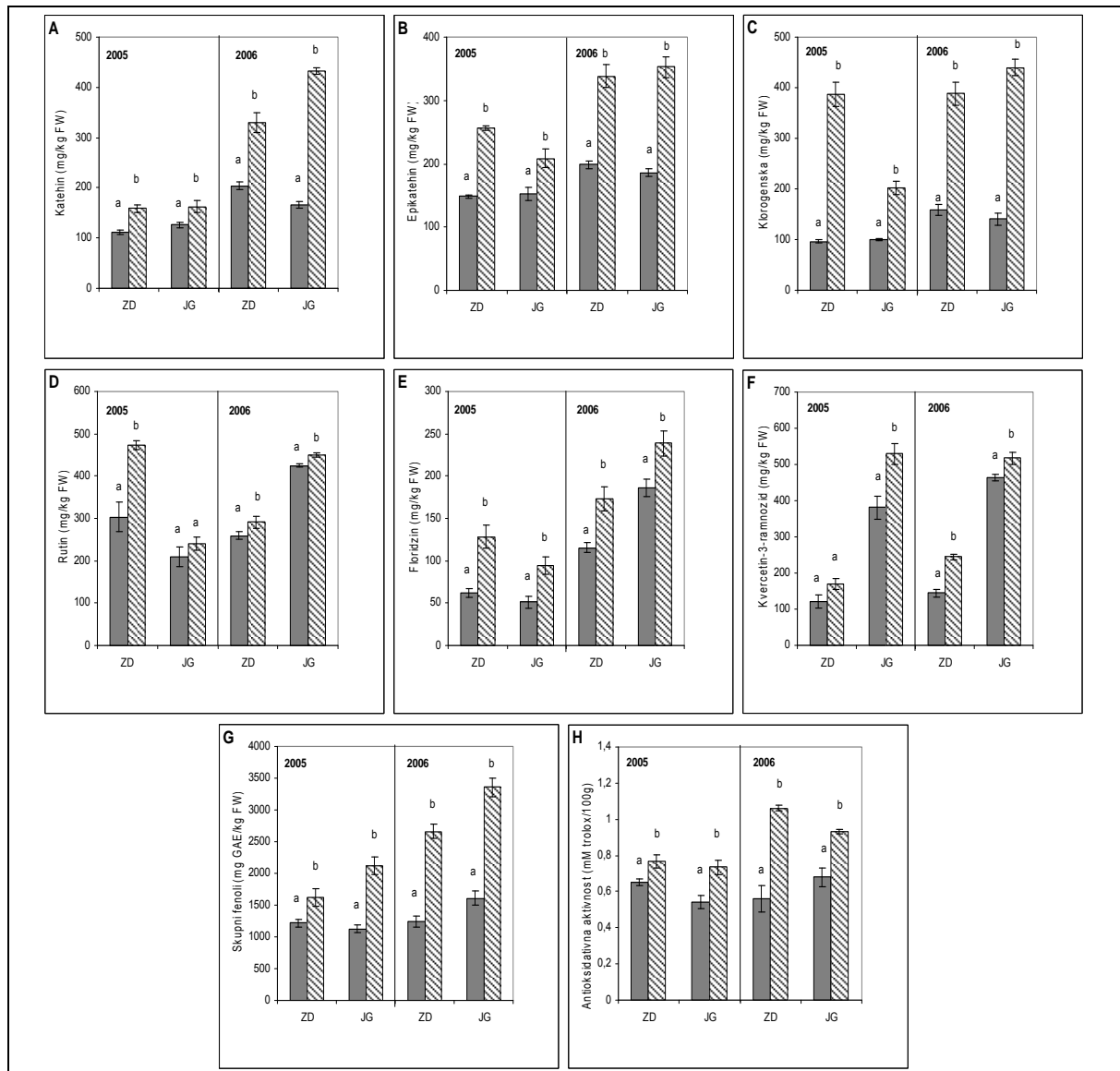
Aglikon floretin se je med termini precej spreminjal, kar sta v svoji raziskavi ugotovila tudi Leser in Treutter (2005). Njegove vsebnosti so v zdravih listih nihale od 2,9 do 21,0 mg/100 g listov (rezultati niso prikazani). Okuženi listi so imeli do 5,4 krat več floretina v primerjavi z zdravimi listi.

Od flavonolov smo določili vsebnost rutina in kvercetin-3-ramnozida (kvercitrin). Vsebnost kvercetin-3-*O*-rutinozida (rutin), kvercetin-3-*O*-galaktozida (hiperin) in kvercetin-3-*O*-glukozida (isokvercitrin) smo izrazili kot ekvivalent rutina. Vsebnost rutina je bila v zdravih listih od 5,1 do 8,2 mg/g DW. V okuženih listih z jablanovim škrlupom se je vsebnost rutina povečala za 1,3 do 4,4 krat. Prav tako je s škrlupom okužena kožica plodov vsebovala značilno več rutina, in sicer pega do 1,6 krat več v primerjavi z zdravo kožico.

Skozi rastno dobo so se vsebnosti kvercetin-3-ramnozida precej spreminjale. Kožica plodov in listi okuženi s škrlupom so imeli značilno večje vsebnosti kvercitrina v primerjavi z zdravim tkivom. Gliva *V. i.* je povzročila večjo sintezo flavonolov rutina kot tudi kvercetin-3-ramnozida. Do podobnih rezultatov sta prišla tudi Treutter in Feucht (1990 a, b), ki sta ugotovila, da listi jabolane ob okužbi z glivo *Venturia inaequalis* akumulirajo flavonole.

V listih smo določili tudi flavan-3-ole (epikatehin in katehin). Zdravi listi so vsebovali od 7,3 do 76,2 mg/100g DW katehina in 22,3 do 89,4 mg/100g DW epikatehina. Vsebnost katehina se je v okuženih listih povečala približno za 1 do 3-krat ter epikatehina za 2 do 4-krat v primerjavi z zdravimi listi. Tudi med zdravim in okuženim tkivom kožice je značilna razlika v

vsebnosti flavan-3-olov. O akumulaciji flavan-3-olov v tkivih jablane okuženih z glivo *Venturia inaequalis* poročajo tudi Treutter in Feucht (1990a).



Slika 1: Vsebnost posameznih in skupnih fenolov (v mg/kg sveže mase (SM) ter antioksidativna aktivnost (mM troloxa/100g sveže mase) v zdravi in z jablanovim škrlupom okuženi kožici sort 'Zlati delišes' in 'Jonagold' na lokaciji Maribor v letih 2005 in 2006. ■ zdravo ▨ škrlup

Figure 1: The content of single and total phenolics [in mg/kg fresh weight (FW)] and antioxidative activity [mM troloxa/100g fresh weight] in healthy and in infected apple peel at cultivars 'Golden Delicious' and 'Jonagold' at Maribor location in years 2005 and 2006. ■ healthy ▨ scab

Vsebnost klorogenske kisline se je v okuženih listih povečala za 1,1 do 4,2 krat v primerjavi z zdravimi listi. Če primerjamo vsebnost klorogenske kisline med zdravo kožico in pego, je bila njena vsebnost pri slednji do 4 krat večja. Vsebnosti ostalih analiziranih hidroksicimetnih kislin so bile nižje od vsebnosti klorogenske kisline (rezultati niso prikazani). Njihove koncentracije so se med rastno dobo le malo spreminjale. Ob okužbi s škrlupom se je vsebnost tako ferulne, *p*-kumarne kot kavine kisline povečala.

Preglednica 1: Vsebnost fenolnih spojin [povprečje v mg/100g ali v mg/g suhe mase (rutin, floridzin, kvercetin-3-ramnozidin in skupni fenoli)] v zdravih in s škrlupom okuženih listih sorte 'Jonagold' v različnih terminih na lokacijah Ljubljana (LJ) in Maribor (MB) v letu 2006.

Table 1: The content of phenolic compounds [mean in mg/100g or in mg/g dry weight (rutin, phloridzin, quercetin-3-ramnoside and total phenolics)] in healthy and in scab infected leaves at cultivars 'Jonagold' at various times at Ljubljana (LJ) and Maribor location (MB) in year 2006.

Datum	Lokacija	Obrav.	Katehin	Epikatehin	Klorogenska kislina	Rutin	Kvercetin-3-ramnozid	Floridzin	Skupni fenoli
25.5.	LJ	zdravi	23,1 a	55,1 a	59,9 a	8,2 a	7,8 a	59,3 a	61,9 a
		okuženi	36,7 b	74,9 b	77,1 b	10,2 b	9,1 b	70,5 b	95,5 b
	MB	zdravi	76,2 a	71,6 a	85,3 a	5,6 a	4,5 a	46,0 a	57,3 a
		okuženi	117,8 b	152,2 b	96,7 b	13,2 b	9,9 b	127,9 b	125,4 b
19.6.	LJ	zdravi	29,1 a	70,1 a	28,8 a	7,3 a	4,9 a	42,3 a	66,1 a
		okuženi	62,9 b	158,6 b	135,4 b	10,7 b	6,3 b	60,9 b	98,5 b
	MB	zdravi	40,1 a	88,4 a	32,7 a	5,1 a	5,5 a	51,5 a	55,1 a
		okuženi	55,4 b	153,0 b	82,4 b	10,9 b	8,8 b	103,3 b	133,8 b
14.7.	LJ	zdravi	14,7 a	70,5 a	21,9 a	7,3 a	4,5 a	37,7 a	59,4 a
		okuženi	47,9 b	164,7 b	105,2 b	11,1 b	5,4 b	63,2 b	86,6 b
	MB	zdravi	22,2 a	59,3 a	21,5 a	6,6 a	5,3 a	66,1 a	55,7 a
		okuženi	51,9 b	118,4 b	68,5 b	11,8 b	9,2 b	127,5 b	110,8 b
8.8.	LJ	zdravi	13,3 a	69,7 a	22,9 a	7,9 a	4,6 a	43,1 a	64,9 a
		okuženi	22,6 b	176,8 b	127,2 b	12,7 b	6,4 b	79,1 b	93,0 b
	MB	zdravi	7,3 a	22,3 a	4,2 a	7,6 a	4,5 a	64,7 a	68,1 a
		okuženi	21,4 b	60,2 b	32,2 b	12,2 b	6,1 b	103,2 b	133,6 b
2.9.	LJ	zdravi	21,3 a	89,4 a	36,4 a	7,4 a	4,4 a	47,4 a	59,1 a
		okuženi	39,5 b	179,3 b	141,1 b	13,1 b	6,8 b	73,2 b	87,7 b
	MB	zdravi	15,8 a	63,0 a	11,4 a	7,3 a	3,9 a	63,3 a	70,8 a
		okuženi	25,6 b	116,4 b	65,8 b	12,4 b	5,6 b	104,4 b	113,1 b

* različne črke prikazujejo statistično značilne razlike med zdravimi in z jablanovim škrlupom okuženimi listi (LSD test, $p < 0,05$) v posameznem terminu in na posamezni lokaciji.

Na okuženih delih listov se je zaradi okužbe z glivo *V. i.* povečala količina skupnih fenolov. Rezultati kažejo, da je gliva povzročila 1,1 do 2,4 krat večjo vsebnost skupnih fenolov v okuženem tkivu v primerjavi z zdravim tkivom listov. Pega na kožici je imela 1,3 do 2,1 krat večje vrednosti skupnih fenolov v primerjavi z zdravo kožico. V povezavi s povečanjem fenolov se posledično povečajo tudi vrednosti antioksidativne aktivnosti kožice. Zdrava kožica je imela vrednosti antioksidativne aktivnosti od 0,56 do 0,65 mM troloxa/100g, pega pa je imela vrednosti 1,2 do 1,9 krat večje.

4 SKLEPI

Gliva *Venturia inaequalis* je na listih kot tudi na plodovih povzročila večjo sintezo analiziranih fenolnih snovi kot tudi skupnih fenolov. Poleg fenolov verjetno obstajajo še druge snovi, ki so vključene v obrambne mehanizme proti jablanovemu škrlupu.

5 LITERATURA

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. + Technol.*, 28: 25-30.
- Escarpa, A., Gonzalez, M.C., 2000. Optimization strategy and validation of one chromatographic method as approach to determine the phenolic compounds from different sources. *Journal of Chromatography A*, 897: 161-170.
- Leser, C., Treutter, D., 2005. Effect of nitrogen supply on growth content of phenolic compounds and pathogen (scab) resistance of apple trees. *Physiologia Plantarum*, 123: 49-56.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Treutter, D., Feucht, W., 1990a. The pattern of flavan-3-ols in relation to scab resistance of apple cultivars. *Journal of Horticultural Science*, 65: 511-517.
- Treutter, D., Feucht, W., 1990b. Accumulation of flavan-3-ols in fungus-infected leaves of Rosaceae. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 97: 634-641.
- Treutter, D. 2001. Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in apple. *Plant Growth Regulation*, 34: 71-89.

RAMULARIJSKA PJEGAVOST NA JEČMU U REPUBLICI HRVATSKOJ

Bogdan KORIC¹, Željko TOMIĆ², Mladen ŠIMALA³, Tatjana MASTEN MILEK⁴

^{1, 2, 3, 4}Zavod za zaštitu bilja u poljoprivredi i šumarstvu Republike Hrvatske, Zagreb

SAŽETAK

Ramularijska pjegavost prvi je puta zabilježena i determinirana u Italiji 1898. godine. Od tada pa do osamdesetih godina prošlog stoljeća za tu se bolest gotovo nije ni znalo. Danas s njom imaju problema proizvođači ječma posebno pivarskog. Uzročnik ove bolesti je gljiva *Ramularia collo-cygni* Sutton et Waller. Topla jesen i jake rose idealni su uvjeti za zarazu mladih listova ozimog ječma, ali znakove zaraze zapažamo u proljeće (stadij busanja) kod proljetnog ječma (stadij vlatanja). U većem razmjeru ramularijska pjegavost javlja se od klasanja do zriobe. Bolest dolazi na svim nadzemnim dijelovima biljke (list, rukavac lista, vlat, brkovi (osje) i pljeva klasa). Na zelenom listu bolest karakteriziraju sitne smeđe pjege s nešto tamnijim središtem, 1-3mm dužine i 0,5mm širine, okružene klorotičnom žutom aureolom. Na odumrlom listu pjege su gotovo crne. Gljiva luči fitotoksine (rubeline A-E) pa je odumiranje zaraženih listova veoma brzo (unutar 12 dana). To smanjuje urod za 25% i kvalitetu zrna za dobivanje slada. Izvori zaraze su zaraženi biljni ostaci, zaraženo sjeme, samonikli ječam pšenica triticales (pšenoraž) te drugi domaćini (pirika, divlja zob). U Hrvatskoj bolest je prvi puta uočena (Korić, Tomić) i determinirana (Tomić) na ječmu 2005. u Brodsko-posavskoj županiji, a u 2008. godini jak napad ove bolesti bio na proljetnom ječmu. Pojava ove bolesti potakla je postavljanje pokusa (Tomić 2005., 2006., 2008.) kako bi se došlo do djelotvornih fungicidnih pripravaka. Za područje Hrvatske djelotvorni su fungicidni pripravci na osnovi tebukonazol+protriokonazol, epoksikonazol+krezoksim-metil. Glavne mjere borbe protiv te bolesti trebaju biti agrotehničke. Prašenje strništa i zaoravanje biljnih ostataka smanjuje pojavu samoniklih žitarica. Istraživanja su pokazala da je početkom rujna 80% do 90% samoniklog ječma zaraženo ovom bolešću. Trebamo sijati certificirano sjeme i otporne sorte. Nažalost u Hrvatskoj se siju mnoge dokazano osjetljive sorte ječma na ovu bolest.

Ključne riječi: ječam, *Ramularia collo-cygni*, zaštita

ABSTRACT

RAMULARIA LEAF SPOT ON BARLEY IN THE REPUBLIC OF CROATIA

Ramularia leaf spot was first time determined and described in Italy 1893. From then till the 80's of the last century it was followed by a long time without any reports about this disease. Today this fungal disease becomes a problem in production of barley, because of the poor quality of barley for malting and brewing. This disease is caused by fungus *Ramularia collo-cygni* Sutton et Waller. Warm autumn and days with fall dew present favourable conditions for infection of young leaves, symptoms of infection (winter barley) we can see in the spring (tillering stage), and spring barley (stem elongation stage). Very strong infections of ramularia leaf spot appears between ear and maturity. Above ground

¹ dr. sc., Svetošimunska 15, HR-10040 Zagreb

² mr. sc., ibid.

³ dr. sc., ibid.

⁴ dr. sc., ibid.

disease attack all parts of barley (leaf, leaf sheath, culms, awns and sometimes glumes). On a green leaf disease has a characteristic small brown spots. Spots are the darkest in the middle, 1-3 mm long and 0,5 mm wide and surrounded by a yellow chlorotic halo. On a death leaf spots are almost black. Infected leaves quickly die (within 12 days) because fungus secretes phytotoxins (rubellins A-E). This decrease the yield for 25% and grain quality for malting and brewing. The sources of infection are straw residue, infected seed, volunteer plants (barley, wheat, triticale) and wild grasses such as couchgrass, wild oats and wild barley. In Croatia this disease was espied (Korić, Tomić) and determined (Tomić) for the first time on barley in 2005 in Brodsko-posavska county. In 2008 hard attack of this disease was on a spring barley. Occurrence of ramularia leaf spot induced the trials (Tomić, 2005, 2006, 2008) with purpose of detection of an effective fungicides. For Croatia effective are combinations of tebukonazol+protiokonazol and epoksikonazol+krezoksim-metil. The main measures of controlling this disease are agricultural measures such as ploughing in stubble-field and strawing to protect volunteer plants. Investigations showed that 80-90% of volunteer barleys were infested with this disease at the beginning of September. Need to sow protected seed and resistant varieties. Unfortunately in Croatia are sowing many of evidently susceptible varieties of barley.

Key words: barley, *Ramularia collo-cygni*, protection

1 UVOD

Prvi zapis o ramularijskoj pjegavosti na listu ječma seže u 1893. godinu kada je talijanski znanstvenik Cavara opisao uzročnika ove bolesti kao *Ophiocladium hordei* kojeg je našao u sjevernoj Italiji. Današnji naziv *Ramularia collo-cygni* za ovu gljivu, uzročnika ramularijske pjegavosti lista ječma, dali su Sutton i Waller 1988. godine na osnovu izgleda konidiofora koji podsjeća na labudov vrat (collum – vrat, cygnus – labud). Slijedeći podatak o ovoj bolesti dao je norveški znanstvenik Jørstad 1930. Iza toga nastupa pauza od 50 godina da bi 1980., isto tako bolest ponovo zabilježena u Norveškoj. Od tada pa do danas bolest se proširila po cijelome svijetu (Novi Zeland, Meksiko, Argentina, Urugvaj, Kanada, SAD i Europa). Širenje ove bolesti po Europi kretalo se od Norveške 1980. pa slijedom Austrija 1986., Švicarska 1986., Mađarska 1987., Njemačka 1993., Češka 1998., Škotska 1998., Irska 1998., Danska 2002., Švedska 2002., Latvija 2002., Poljska 2003., Francuska 2004., Litva 2004., Belgija 2005. i Hrvatska 2005.. Prema meni dostupnim podacima u Sloveniji ova bolest nije zabilježena.

Ramularijsku pjegavost lista ječma uzrokuje gljiva *Ramularia collo-cygni*. Nakon sjetve ozimog ječma u jesen vjetar i zračne struje prenose spore ove gljive na iznikle mlade usjeve ječma. U to vrijeme glavni izvori spora gljive *Ramularia collo-cygni* su zaraženi biljni ostatci zaostali nakon žetve, samonikli ječam i zaraženo sjeme. Dodatni izvori mogu još biti i drugi domaćini ove gljive. To su pšenica, pšenoraž – triticale, kukuruz, samonikle žitarice, korovske trave pirika (*Agropyron repens*), divlji ječam (*Hordeum* spp.) i druge. Proljetni ječam može biti zaražen, uz navedene izvore zaraze, i sporama sa zaraženog ozimog ječma. Topla jesen s jakim rosama i maglom idealni su uvjeti za uspješnu zarazu mladih listova ozimog ječma s ovom bolešću. Postojanje zaraze, nakon nicanja ječma pa do početka busanja, može se utvrditi samo putem PSR-a. Prve vidljive znakove zaraze možemo uočiti kod ozimog ječma u kasnu jesen ili rano proljeće, a proljetnog ječma kada je usjev u stadiju busanja. U to vrijeme pjege su okrugle ili ovalne i nisu omeđene nervaturom lista kao “ljetne pjege” pa stoga mogu biti veće. Od stadija vlatanja do zriobe gljivi za život, zarazu i razvoj bolesti pogoduju topli i sunčani dani s dugotrajnom rosom. Istraživanja su pokazala da noćna rosa djeluje stimulirajući na razvoj i širenje

bolesti. Početnu zarazu karakteriziraju svijetle točkaste pjege koje kasnije postaju nekrotično smeđe, a čija je sredina nešto tamnija.



Slika 1. Nekrotične smeđe pjege okružene žutom aureolom.
Figure 1. Necrotic brown spots surrounded by a yellow halo.

Cijelu pjegu okružuje žuta aureola (slika 1.). U slučaju slabije zaraze pjege su veličine 1mm-3mm X 0,5mm i slijede nervaturu lista dok kod jakih zaraza veličina pjega ne prelazi 0,2mm-0,4mm. Kod izuzetno jakog napada pjege se spajaju u veliku tamnu pjegu i list postaje gotovo crn. Gljivu *Ramularia collo-cygni* možemo vidjeti tek kada zaraženi dio biljke odumre. Spore gljive u prosjeku su 8 μm duge i 4 μm široke. Površina im je prekrivena uresom kojeg čine spljoštene i izdužene bodlje. U povoljnim uvjetima (jaka rosa, vlaga, temperatura 4^o-24^o C) gljiva klije i klična cijev kroz pući ulazi u unutrašnjost tkiva kojeg pomoću fitotoksinom razara. Zarazom mogu biti zahvaćeni svi nadzemni dijelovi biljke. Tamnosmeđe do crne nekrotične pjege vidljive su na zaraženoj površini lista, rukavca lista, vlati, klasa i osja (slike 2.-5.). Gljiva izlučuje fitotoksin (rubelin) koji svojim djelovanjem uzrokuje veoma brzo odumiranje i sušenje napadnutih listova u vrlo kratkom vremenskom periodu ne duljem od 12 dana. Rezultat toga je prerana (prisilna) zrioba kada se mijenja odnos škroba i proteina kod nalijevanja zrna što umanjuje kvalitetu zrna, masu 1000 zrna, a sam urod za preko 25%. Promjena odnosa škroba i proteina u zrnu posebno je nepovoljno kod proizvodnje pivarskih ječmova jer dolazi do smanjenja sladne komponente pa mogu nastati problemi pri varenju piva.

Znakovi zaraze ramularijskom pjegavosti nisu specifični te se mogu zamijeniti s nekim ne parazitskim i parazitskim pjegama kada nastaju poteškoća pri njenom određivanju. Znakovi zaraze s kojima može doći do zamjene su pojava fizioloških i genetskih pjega ali i znakovima (pjegama) koji nastaju pojavom mrežaste pjegavosti (*Pyrenophora teres*) napose formom *maculata*, *Bipolaris sorokiniana*, pepelnice (*Blumeria graminis f.sp. hordei*).



Slika 2. Smeđe do crno-smeđe nekrotične pjege na zaraženim listovima.
Figure 2. Brown to brown-black necrotic spots on infection leaves.



Slika 3. Zaraza na listu i rukavcu lista.
Figure 3. Infection on leaves and leaf sheaths.



Slika 4. Zaraza na vlati.
Figure 4. Infection on stems.



Slika 5. Zaraza na osju.
Figure 5. Infection on awns.

2 MATERIJAL I METODIKA

Po programu "Izveštajni i prognozni poslovi" tijekom vegetacije obilazili su se usjevi ozimog i proljetnog ječma kako bi se ustanovila prisutnost ramularijske pjegavosti lista, njena jačina napada te eventualne posljedice na urod. U Hrvatskoj ova je bolest prvi put službeno nađena i registrirana na usjevima ozimog ječma (Korić, Tomić) u Brodsko-posavskoj županiji 2005. godine. Iste godine taj je nalaz potvrđen mikroskopskom determinacijom (Tomić). U 2006. godini ramularijska pjegavost nađena je na usjevima ječma Brodsko-posavske, Virovitičko-podravske, Bjelovarsko-bilogorske, Požeško-slavonske i Varaždinske županije. Slijedeće 2007. godine u Brodsko-posavskoj i Vukovarsko-srijemskoj županiji, a 2008. u Brodsko-posavskoj, Krapinsko-zagorskoj, Osječko-baranjskoj, Sisačko-moslavačkoj, Zagrebačkoj županiji i Gradu Zagrebu.

Od 2005. godine u Zavodu se provode pokusi o djelotvornosti fungicidnih pripravaka na ramularijsku pjegavost na ječmu (Tomić 2005., 2006, 2008.). Pokusi su provedeni s pripravcima koji imaju dozvolu za tretiranje ječma tijekom vegetacije. Ujedno su obavljena istraživanja o postojanju otpornosti kod ječmova koji se siju na poljima u Hrvatskoj. Istraživanje otpornosti, u prirodnim uvjetima zaraze, provedeno je na 26 sorata ječma (Tomić 2006.).

3 REZULTATI ISTRAŽIVANJA I RASPRAVA

Nakon višegodišnjih istraživanja djelotvornosti fungicidnih pripravaka koji imaju dozvolu za primjenu u ječmu došlo se do zaključaka da su pripravci na osnovu djelatnih tvari tebukonazol+protiokonazol, epikonazol+kreoksim-metil, epikonazol+fenpropimorf djelotvorni kod suzbijanja ramularijske pjegavosti. U 2008. godini ova bolest uzela je velikog maha, napose kod proljetnih ječmova. Zaraze su bile izuzetno jake kod osjetljivih sorata, uglavnom su to introducirane sorte, pa se jedno tretiranje u klasanju odnosno cvatnji pokazalo nedostatno za postizanje zadovoljavajuće zaštite kod većine ispitivanih fungicidnih pripravaka. Zadovoljavajuću zaštitu, u ovogodišnjim istraživanjima, pružili su pripravci na osnovu djelatnih tvari tebukonazol+protiokonazol. U sjemenskoj proizvodnji preporuča se sjeme u procesu dorade zaštititi fungicidnim pripravkom na osnovu djelatnih tvari tebukonazol+protiokonazol kako bi se suzbila zaraza na sjemenu, budući da je zaraženo sjeme jedan od možebitnih uzroka pojave ove bolesti na mladim usjevima ječma. Nazočnost gljive *Ramularia collo-cygni*, uzročnika ramularijske pjegavosti lista ječma, u prirodnim uvjetima zaraze određivala se na osnovi tipičnih znakova za navedenu bolest gornjih listova, vlati i osja te putem mikroskopske determinacije. U sklopu istraživanja otpornosti svih 26 sorata (komercijalnih i onih koje će to postati) pokazale su se osjetljive na prisutnost ove bolesti iz čega proizlazi da na našim prostorima otpornih sorata na ramularijsku pjegavost vjerojatno nema.

4 ZAKLJUČAK

- Od prve pojave ramularijske pjegavosti lista ječma 2005. godine do danas bolest se iz godine u godinu širila a jačina zaraze se povećavala.
- Posebno jak napad ove bolesti zabilježen je u 2008. godini na proljetnom ječmu.
- Ramularijska pjegavost je nova bolest na ječmu i prema dosadašnjim istraživanjima u budućnosti mogla bi predstavljati veći problem u proizvodnji ječma u Republici Hrvatskoj.
- Primarni način suzbijanja ove bolesti trebale bi biti agrotehničke mjere tim prije što za sada otpornih sorata u Hrvatskoj nema.
- Dosadašnja višegodišnja istraživanja pokazuju da se fungicidnim pripravcima na osnovu djelatnih tvari tebukonazol+protiokonazol mogu dobiti najbolji rezultati zaštite.

- U isto vrijeme za tretiranje sjemena, kod dorade, treba uporabiti fungicidni pripravak na osnovi djelatnih tvari tebukonazol+protiokonazol.

5 LITERATURA

- Burke, I.J., Hackett, R., O'Sullivan, E. 2001.: The Barley Leaf Spot Problem – Causes and Control. www.teagasc.ie/publications/2001/tillageconference/paper03.htm 17.1.2006.
- Czember, H., J. 2008.: Importance of *Ramularia collo-cygni* on barley plantations in Poland. COST860 SUSVAR Workshop Emerging pathotypes in cereals Piikko, Finland, Abstract book, S.3.
- Koopman, B., Oxley, S., Schutzendubel, A., Tiedemann, von A. 2007.: Proceedings of First European Ramularia Workshop, 12-14th of March, Gottingen, Germany.
- Leistrumaitė, A., Liatukas, Ž. 2006.: Resistance of spring barley cultivars to the new disease Ramularia leaf spot, caused by *Ramularia collo-cygni*. Agronomy Research 4 (Special issue), 251-255.
- Manninger Klara, Vajna, L., Muranyi, I.. 2007.: Occurrence of Ramularia leaf spot on winter barley in Hungary. Vereinigung und Saatgutkaufleute Österreichs LFZ Raumberg-Gumpenstein, 20.-22. November 2007.
- Minarikova, V., Marik, P. 2002.: Occurrence and epidemiology of a new fungal pathogen of pathogen of barley, *Ramularia collo-cygni*. Petria 12(1-2), 263-266.
- Oxley, S. - : Ramularia leaf spot in barley. Scottish Agriculture College, TN568: Barley Disease Control (available on SAC and HGCA websites).
- Sachs, E. 2006.: The history of research into Ramularia leaf spot on barley. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., 58(7), S. 186-189.
- Sach, E., Huss, H. 2008.: Ramularia leaf spot disease, caused by *Ramularia collo-cygni*. Julius Kuhn-Institut (JKI).
- Sutton & Waller: Diseases for which the spot might be mistaken. www.bba.de/inst/a/ramularia/confusion.html 16.1.2006.
- Tiedemann von A. - : Ramularia leaf spot on barley. Dept. Of Crop Sciences – Div. Plant Pathology and Crop Protection.

VIRUS OVENELOSTI BOBA 1 (BBWV1) – NOV GOSPODARSKO POMEMBEN VIRUS PAPRIK V SLOVENIJI

Nataša MEHLE¹, Magda TUŠEK ŽNIDARIČ², Maja RAVNIKAR³

^{1,2,3}Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo,
Ljubljana.

IZVLEČEK

Poleti 2006 so bile v jugovzhodni Sloveniji, v nasadu za komercialno pridelavo paprike (*Capsicum annuum*), opažene rastline paprike z bolezenskimi znamenji značilnimi za okužbo z virusi. Zaradi razbarvanja, obročev in temnih izboklin na plodovih je bila izguba pridelka v okuženem območju skoraj 100 %. Na večini listov so bila opazna rahla razbarvanja, na nekaterih pa izrazit vzorec kot ornament v mavrskem slogu ali v obliki koncentričnih obročev. V jesenskem obdobju so bili plodovi istih rastlin brez bolezenskih znamenj. Liste in plodove paprik z bolezenskimi znamenji, smo analizirali z ELISA na prisotnost različnih virusov. Pozitiven rezultat smo dobili le na virus ovenelosti boba 1 (BBWV 1; *Broad bean wilt virus 1*). Rezultat je bil potrjen z imunsko-serološko elektronsko mikroskopijo (ISEM), testnimi rastlinami, z RT-PCR s specifičnimi začetnimi oligonukleotidi za BBWV 1 in z ugotavljanjem nukleotidnega zaporedja DNA dela gena za večji in manjši plaščni protein. Virus BBWV 1 smo dokazali tudi v plevelni rastlini iz družine radičevk z rahlo vidnim mozaikom, ki je rasla v neposredni bližini okuženih paprik. Diagnoza in karakterizacija obeh vzorcev predstavljata prvo določitev virusa BBWV1 v Sloveniji (Mehle in sod., 2008). V prispevku predstavljamo tudi najdbo virusa BBWV 1 v srednji Sloveniji iz leta 2005 na vzorcu verbene s klorotičnimi madeži na listih ter najdbe iz leta 2007 na dveh vzorcih paprike, ki pa sta bili hkrati okuženi tudi z virusom mozaika kumar (CMV). Poleg orisa najdb virusa BBWV 1 v Sloveniji v prispevku predstavljamo tudi biotične karakteristike tega gospodarsko pomembnega virusa paprik.

Ključne besede: BBWV 1, detekcija, paprika, Slovenija, virus ovenelosti boba 1

BROAD BEAN WILT VIRUS 1 (BBWV 1) – THE NEW ECONOMICALLY IMPORTANT VIRUS OF PEPPER IN SLOVENIA

ABSTRACT

During summer of 2006, pepper plants (*Capsicum annuum*) showing virus-like symptoms, were observed in a commercial field in south-eastern Slovenia. Discolorations, rings or dark bumps on fruits led to almost 100% loss of the yield in some areas. Symptoms on leaves were usually expressed as slight discolorations, but also as arabesques or concentrating rings. In autumn, infected plants expressed less severe symptoms and produced symptomless fruits. The infected leaves and fruits of pepper, with different types of symptoms, were tested by ELISA for the presence of different viruses. Positive results were obtained only with *Broad bean wilt virus 1* (BBWV 1). Immuno-serological electron microscopy (ISEM), test plants, RT-PCR with BBWV 1 specific primers and the sequence of the RT-PCR product, encompassing part of the two coat proteins genes, confirmed BBWV 1 infection. The BBWV 1 was also

¹ mag., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

² dr., prav tam

³ prof. dr., prav tam

identified in one weed species belonging to family *Cichoriaceae*, expressing mild mosaic and growing near the epidemic area. The diagnosis and characterization of both samples is the first determination of BBWV 1 in Slovenia (Mehle *et al.*, 2008). In this paper additional the finding of BBWV 1 in central Slovenia on *Verbena* plants in 2005 and finding of mix infections with *Cucumber mosaic virus* on two samples of pepper in 2007 are presented. Besides findings of BBWV 1 in Slovenia, the biological characteristics of this economically important virus of pepper are provided.

Key words: BBWV 1, *Broad bean wilt virus 1*, detection, pepper, Slovenia

1 UVOD

Poznamo dva sorodna virusa ovenelosti boba (BBWV): BBWV 1 in BBWV 2. Virusa sta serološko in po nukleotidnem zaporedju različna in so ju do leta 1999 obravnavali kot en virus (Kobayashi in sod., 1999); zato v literaturi ni ločenih podatkov o gostiteljskih rastlinah in drugih biotičnih lastnostih. Nekatere države poročajo o odkritju obeh virusov (Mumford in sod., 2006), vendar je BBWV 2 pogostejši v Aziji, Avstraliji in S Ameriki, BBWV 1 pa v Evropi (Zhou, 2002).

Naravni gostitelji BBWV so številne vrtnine, okrasne in plevelne rastline (Taylor in Stubbs, 1972; Zhou, 2002). Virus BBWV se prenaša neperzistentno z listnimi ušmi (*Myzus persicae*, *Aphis craccivora*, *Macrosiphum euphorbiae*,...), lahko tudi mehansko s sokom okuženih rastlin (Taylor in Stubbs, 1972; Zhou, 2002). Virus je relativno stabilen v okolju (v soku okuženega boba, pri 21°C, ostane infektiven dva do tri dni) (Taylor in Stubbs, 1972). Po podatkih iz literature se virus ne prenaša s semeni boba, graha in kapucinke, razen izolat virusa BBWV 2 iz Sirije v zelo nizki frekvenci (0,4-0,6 %) s semeni boba (Taylor in Stubbs, 1972; Zhou, 2002). Glede možnosti prenosa virusa BBWV 1 s semeni paprike v literaturi ni podatkov, prav tako ni podatkov o preživetju virusa v ostankih rastlin v zemlji. Na Kitajskem so BBWV 2 dokazali v 70 % od 23 analiziranih sadik paprike, kar nakazuje na možnost prenosa virusa BBWV 2 s semeni paprike, vendar z laboratorijskimi testi možnost prenosa virusa BBWV 2 s semeni paprike niso potrdili (AVRDC, 2000).

Na papriki virus BBWV povzroči sistemsko okužbo, vendar navadno ne poročajo o močnih bolezenskih znamenjih; izjema je korejski različek virusa BBWV 2, ki povzroča nekroze in posledično propad rastlin paprike (Lee in sod., 2000). Teodora Tornos (Laboratori de Sanitat Vegetal, Barcelona) poroča o močnih bolezenskih znamenjih na listih in plodovih paprike v Španiji, ki bi jih naj povzročil virus BBWV 1 v času visokih temperatur (neobjavljeni podatki)..

2 MATERIAL IN METODE

V letih od 2000 do 2008 smo na prisotnost virusov testirali 204 vzorce rastlin paprike. Večino vzorcev so nabrali fitosanitarni inšpektorji v okviru stalnega nadzora škodljivih organizmov, ki ga vrši Fitosanitarna uprava Republike Slovenije. Nabrani so bili večinoma vzorci z bolj ali manj tipičnimi bolezenskimi znamenji, redkeje vzorci brez bolezenskih znamenj. Večinoma smo za analize uporabljali liste in poganjke, redkeje plodove. Vzorce paprike smo diagnosticirali po shemi, ki vključuje kombinacijo različnih metod od serologije, elektronske mikroskopije, testnih rastlin do novejših molekularnih tehnik.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Poleti 2006 so bile v jugo-vzhodni Sloveniji (Malence, Kostanjevica) v nasadu za komercialno pridelavo paprike opažene rastline paprike z bolezenskimi znamenji značilnimi za okužbo z virusi. Bolezenska znamenja so bila vidna na vseh štirih kultivarjih paprike, ki jih

je lastnik prideloval: Atol, Olimp, Bjanca in Verbrana. V času pojava bolezenskih znamenj so bile temperature okolja izredno visoke. Zaradi razbarvanja, obročev in izboklin na plodovih, je bila izguba pridelka v okuženem sklopu tunelov skoraj 100 %. Na večini listov so bila opazna rahla razbarvanja, na nekaterih pa je bil izrazit vzorec kot ornament v mavrskem slogu ali v obliki koncentričnih obročev. Rast rastlin in število plodov je bilo nespremenjeno. V jesenskem obdobju, ko so bile temperature okolja nižje, so bili plodovi istih rastlin brez bolezenskih znamenj. Podobno kot pri nas so tudi v Španiji pred leti opazili vpliv visokih temperatur na pojav podobnih bolezenskih znamenj (ustna informacija: Theodore Tornos; Laboratori de Sanitat Vegetal, Barcelona).

Liste in plodove z različnimi tipi bolezenskih znamenj, smo analizirali z ELISA na vsebnost BBWV 1, BBWV 2, CSNV (virus stebelne nekroze krizantem), CMV (virus mozaika kumar), INSV (virus nekrotične pegavosti vodenke) in TSWV (virus pegavosti in uvelosti paradižnika). Pozitiven rezultat smo dobili le na BBWV 1 in sicer za vse vzorce paprike, nabrane na okuženem območju. Virus BBWV 1 smo dokazali tudi v plodu in listih paprike brez bolezenskih znamenj ter v plevelni rastlini iz družine radičevk z rahlo vidnim mozaikom, ki sta rasli v neposredni bližini okuženih paprik. V drugih vzorčenih in analiziranih plevelnih ter kmetijskih rastlinah (koruza, jagode, zelje), ki so rasle v bližini okuženih paprik, virusa BBWV 1 nismo dokazali. Rezultat je bil potrjen tudi z imunsko-serološko elektronsko mikroskopijo (ISEM). Za ELISA in ISEM smo uporabili BBWV 1 specifična protitelesa iz zbirke DSMZ (Nemčija).

Z mehansko okužbo smo virus uspešno prenesli na papriko, *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana rustica* in *N. tabacum* cv. White Burley. Na vseh okuženih testnih rastlinah smo opazili lokalna in sistemska bolezenska znamenja. Na testni rastlini paprike smo opazili lisavost na listih, na *C. quinoa* rumenenje in mozaik, na *N. rustica* pa gubanje. Na nekaterih listih testne rastline *N. tabacum* cv. White Burley smo opazili klorotične obroče in črte, drugi listi niso imeli očitnih bolezenskih znamenj. Prenos virusa z mehansko okužbo na *N. clevelandii*, *N. benthamiana* in *Lycopersicon esculentum* kultivar Money maker ni bil uspešen.

Diagnoza vzorcev iz leta 2006 in karakterizacija BBWV 1 predstavlja prvo opisano odkritje tega virusa v Sloveniji (Mehle in sod., 2008). Virus BBWV 1 smo v Sloveniji, v okolici Ponikve, odkrili že leta 2005 na vzorcu verbene s klorotičnimi madeži na listih. Leta 2007 smo virus BBWV 1 ponovno dokazali na dveh vzorcih paprike, ki pa sta bili hkrati okuženi tudi s CMV. 1 vzorec iz leta 2007 je bil nabran na isti lokaciji kot vzorci iz leta 2006, drugi pa je bil iz nasada oddaljenega cca 1 km (Sajevce, Kostanjevica). V letu 2007 naj bi po informaciji vzorčevalke virus BBWV 1 ne povzročil večje gospodarske škode, saj so bili okuženi le posamezni plodovi.

Z RT-PCR, s specifičnimi začetnimi oligonukleotidi B1/B2, ki pomnožujejo del gena za večji in manjši plaščni protein (Rubio in sod., 2002), smo analizirali RNA izolirano z RNeasy iz vzorca paprike in iz mehansko okužene testne rastline *N. tabacum* cv. White Burley. Specifičen pomnožek, dolg približno 500 bp, smo očistili iz 1 % agaroznega gela z modificiranim TAE pufrom z DNA Gel Extraction kit (Millipore) in poslali v ugotavljanje nukleotidnega zaporedja DNA v Korejo (Macrogen INC, Korea). Nukleotidni zaporedji, dobljeni s smiselnim in protismiselnim začetnim oligonukleotidom, smo poravnali s programom Align v Vector NTI. Del nukleotidnega zaporedja iz vzorca paprike, ki je bil prebran v obeh smereh (334 bp), smo vložili v gensko banko (št. nukleotidnega zaporedja iz baze NCBI: EF405826). Z BLAST analizo 334 bp dolgega odseka, ki je ustrezal delu genov za večji in manjši plaščni protein, smo ugotovili, da je stopnja podobnosti nukleotidnega zaporedja našega izolata z drugimi BBWV 1 izolati iz genske banke približno 80 %. Stopnja podobnosti amino kislin pa je bila od 90-92 % z BBWV1 izolati in 54-58 % z BBWV 2 izolati iz genske banke. Primerjali smo tudi nukleotidno zaporedje izolata iz paprike z izolatom iz verbene in ugotovili, da imata 80 % stopnjo podobnosti. Izolat iz verbene smo

primerjali nato še z drugimi izolati BBWV 1 in BBWV 2 iz genske banke in ugotovili sledeče: stopnja podobnosti nukleotidnega zaporedja z drugimi BBWV 1 izolati iz genske banke je 82-83 %, stopnja podobnosti aminokislinskega zaporedja pa je od 95-96 % z BBWV 1 in 50-55 % z BBWV 2. O podobnem razmerju stopnje podobnosti med različnimi izolati BBWV na istem delu genoma (na delu genoma za manjši in večji plaščni protein), poročajo tudi Rubio in sod. (2002). Razmerje stopnje podobnosti aminokislinskega zaporedja se ohranja tudi v primeru primerjave celotnega genoma (RNA 1 in RNA 2) španskega izolata z drugimi izolati BBWV: 92,1-93,3 % stopnja podobnosti z ameriškim BBWV 1 izolatom (stopnja podobnosti nukleotidnega zaporedja je 81,5 %) in 56,2-61,6 % s sedmimi različnimi BBWV 2 izolati (Ferrer in sod., 2005).

Zaradi širokega kroga naravnih gostiteljev je zatiranje virusa BBWV težka. Odstranjevanje plevelnih rastlin in drugih rastlinskih ostankov, uporaba zdravih rastlin za sajenje, previdnost pri delu z rastlinami, uporaba dezinfekcijskih sredstev ter razni načini zavarovanja polj pred ušmi, so možnosti za preprečitev širjenja virusa.

4 SKLEPI

Virus ovenelosti boba 1 (BBWV1) je nov gospodarsko pomemben virus paprik v Sloveniji, saj lahko v za virus ugodnih pogojih okolja povzroči velike ekonomske izgube pridelka, zato je nujna kontrola širjenja virusa.

5 ZAHVALA

Zahvaljujemo se sodelavcem Fitosanitarnе inšpekcije (še posebno Klavdiji Matjaž Petek in Marti Jurečič) za nabrane vzorce in koristne informacije o stanju pri pridelovalcih, Smiljani Tomše za posredovanje prvega pozitivnega vzorca paprike ter Fitosanitarni upravi RS in Fitosanitarni inšpekciji za sofinanciranje. Za strokovno pomoč se zahvaljujemo Teodori Tornos (Laboratori de Sanitat Vegetal, Barcelona, Španija) ter D.-E. Lesemannu (Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Institute of Plant Virology, Microbiology and Biosafety, Braunschweig, Nemčija).

6 LITERATURA

- AVRDC. 2000. Project 5. Integrated insect and disease management (IPM) for environment-friendly production of safe vegetables. AVRDC Report 1999. Taiwan, AVRDC-Asian Vegetable Research and Development Center: 52-64
- Ferrer R.M., Guerri J., Luis-Arteaga M.S., Moreno P., Rubio L. 2005. The complete sequence of a Spanish isolate of *Broad bean wilt virus 1* (BBWV-1) reveals a high variability and conserved motifs in the genus *Fabavirus*. *Archives of Virology*, 150, 10: 2109-2116
- Kobayashi Y.O., Nakano M., Kashiwazaki S., Naito T., Mikoshiba Y., Shiota A., Kameya-Iwaki M., Honda Y. 1999. Sequence analysis of RNA-2 of different isolates of *Broad bean wilt virus* confirms the existence of two distinct species. *Archives of Virology*, 144: 1429-1438
- Lee U., Hong J.S., Choi J.K., Kim K.C., Kim Y.S., Curtis I.S., Nam H.G., Lim P.O. 2000. *Broad bean wilt virus* causes necrotic symptoms and generates defective RNAs in *Capsicum annuum*. *Phytopathology*, 90: 1390-1395
- Mehle N., Tušek-Znidarič M., Tornos T., Ravnikar M. 2008. First report of *Broad bean wilt virus 1* in Slovenia. *Plant Pathology*, 57, 395.
- Mumford R.A., Jarvis B., Harju V., Boonham N., Skelton A. 2006. First report of *Broad bean wilt virus 2* in the UK: findings in foxglove and salvia. *Plant Pathology*, 55, 6: 819-819.
- Rubio L., Luis-Arteaga M., Cambra M., Serra J., Moreno P., Guerri J. 2002. First report of *Broad bean wilt virus 1* in Spain. *Plant Disease*, 86, 6: 698-698
- Taylor R.H., Stubbs L.L. 1972. *Broad bean wilt virus*: 81. V: Descriptions of plant viruses. Warwick, Commonwealth Mycological Institute / Association of Applied Biologists (jun. 1972). <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=81> (5. jun. 2007): 7 str.
- Zhou X. 2002. *Broad bean wilt virus 2*: 392. V: Descriptions of plant viruses. Warwick, Commonwealth Mycological Institute / Association of Applied Biologists (okt. 2002). <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=392> (3. maj 2007): 9 str.

OPAZOVANJE IN IDENTIFIKACIJA PRAVIH LISTNIH UŠI (STERNORRHYNCHA: APHIDOIDEA) NA GOJENIH RASTLINAH V SLOVENIJI

Špela MODIC¹, Irena MAVRIČ PLEŠKO², Meta URBANČIČ ZEMLJIČ³, Peter KOZMUS⁴,
Gregor UREK⁵

^{1,2,3,4,5}Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

V okviru opazovalno napovedovalne službe za varstvo rastlin na Kmetijskem inštitutu Slovenije spremljamo nalet pravih listnih uši, ki prenašajo viruse v nasadih semenskega krompirja. V obdobju od leta 2003 do 2008 smo sistematično spremljali dinamiko leta pravih listnih uši (Aphididae) na štirih območjih pridelave semenskega krompirja: Komenda, Jablje, Šentvid pri Stični in Libeliče. Največ ujetih listnih uši iz družine Aphididae je pripadalo rodu *Aphis*. V krompiriških so bile najštevilčnejše zastopane virusonosne vrste: *Aphis fabae* (Scopoli 1763), *Cavariella aegopodii* (Scopoli 1763), *Phorodon humuli* (Schrank 1801), *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus 1758), *Sitobion avenae* (Fabricius 1775) *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas 1878), *Brachycaudus cardui* (Linnaeus 1758), *Myzus persicae* Sluzer 1776, *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus 1758), *Brachycaudus helichrysi* (Kaltenbach 1843), *Metopolophium dirhodum* (Walker 1849), *Aulacorthum solani* Kaltenbach 1843 in *Aphis nasturtii* Kaltenbach 1843. Nekatero od navedenih vrst lahko prenašajo tudi viruse v žitih. Zaradi pojavljanja virusa rumene pritlikavosti ječmena (BYDV - Barley Yellow Dwarf Virus) smo ugotavljali zastopanost vrst in dinamiko leta listnih uši tudi v posevkih ozimnih žit. V ječmenu in pšenici smo ugotovili: veliko žitno uš (*Sitobion avenae* F.), čremsovo uš (*Rhopalosiphum padi* L.) in koruzno uš (*Rhopalosiphum maidis* F.). Poleg morfološke identifikacije listnih uši smo pri nekaterih vzorcih opravili tudi molekularno identifikacijo. Uporabili smo metodo določanja nukleotidnega zaporedja DNA in sicer 708 bp dolgo regijo gena za citokrom oksidazo I (COI) v mitohondrijski DNA.

Ključne besede: identifikacija, Sternorrhyncha, Aphidoidea, prave listne uši

ABSTRACT

MONITORING AND IDENTIFICATION OF APHIDS (STERNORRHYNCHA: APHIDOIDEA) ON CULTIVATED PLANTS IN SLOVENIA

In frame of the Forecasting and Warning Service for Pests and Diseases at Agricultural Institute of Slovenia, the peak flight of aphids transmitting viruses in seed potato plantations is being monitored. In the period from 2003 to 2008, the dynamics of aphid flight was monitored systematically on four locations of seed potato production: Komenda, Jablje, Šentvid pri Stični and Libeliče. The majority of aphids of the family Aphididae that were caught belong to the genus *Aphis*. In areas of potato seed production, following were the most numerously represented species: *Aphis fabae* (Scopoli 1763), *Cavariella aegopodii* (Scopoli 1763), *Phorodon humuli* (Schrank 1801), *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus 1758), *Sitobion avenae* (Fabricius 1775) *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas 1878), *Brachycaudus*

¹ mag. agr. znan., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

² dr. biol. znan., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ dr., univ. dipl. inž. zoot., prav tam

⁵ doc. dr., prav tam

cardui (Linnaeus 1758), *Myzus persicae* Sluzer 1776, *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus 1758), *Brachycaudus helichrysi* (Kaltenbach 1843), *Metopolophium dirhodum* (Walker 1849), *Aulacorthum solani* Kaltenbach 1843, *Aphis nasturtii* Kaltenbach 1843. Some of the quoted aphid species can transmit the viruses in cereals. Due to the presence of Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV) in winter cereal crops, we started to monitor aphids also in these field crops. It was found out that on winter barley and wheat the species Grain aphid - *Sitobion avenae*, Apple-grain aphid - *Rhopalosiphum padi* and Cereal leaf aphid - (*Rhopalosiphum maidis*), appeared. Beside morphological identification, molecular identification of aphid species based on sequence analysis of gene for cytochrome oxidase I, was done, too.

Keywords: identification, Sternorrhyncha, Aphidoidea, aphids

1 UVOD

1.1 Številčnost vrst listnih uši

Podnebje, vremenske razmere (temperatura, padavine, suša) in gostiteljske rastline močno vplivajo na vrstni sestav fitofagov, med katere uvrščamo tudi prave listne uši (Sternorrhyncha: Aphidoidea). Na svetu je znanih več kot 4700 vrst pravih listnih uši (Remaudiere in Remaudiere, 1997), v Evropi približno 1500 vrst (Olivera Petrović-Obradović, 2003), od teh jih živi v Sloveniji 197 vrst (Modic in Urek, 2008). Po klasifikaciji prave listne uši uvrščamo v podred Sternorrhyncha - prsokljunci, ki šteje 16.000 vrst in ga delimo v štiri večje skupine rastlinojedih žuželk: bolšice - Psylloidea, ščitkarji - Aleyrodoidea, prave listne uši - Aphidoidea in kaparji - Coccoidea. Izraz Sternorrhyncha izvira iz grščine ter se nanaša na lego ustnega dela za sesanje. Beseda '*sternon*' pomeni prsa in beseda '*rhynchos*' rilček. Skupna lastnost žuželk iz reda Hemiptera je ustni del za sesanje oblikovan v 'rostrum'. Ta je sestavljen iz mandibul in maksil (stilet) ter leži v žlebičasto oblikovanem labiumu. Stileta sta združena v dva kanala. Po enem se pretaka slina, po drugem pa hrana.

Pri pravih listnih ušeh imajo tako nižji razvojni stadiji (nimfe) kot tudi odrasle listne uši dobro razvit ustni aparat za bodenje in sesanje, sesalo je dolgo in dobro razvito. Prehranjujejo se tako, da s stiletom prebodejo povrhnjico lista in s sesalom, zabodenim v žilno tkivo floema, črpajo hranilne snovi. Prav zaradi te lastnosti hrana prsokljuncev vsebuje veliko ogljikovih hidratov in je siromašna z aminokislinami in drugimi dušikovimi spojinami. Nekatere vrste prsokljuncev med hranjenjem izločajo, skozi zadnjično odprtino, lepljivi sladkorni izloček, ki ga strokovno imenujemo medena rosa ali mana. Sifoni oziroma zadkove cevčice pri tem nimajo pomena. Skoznje izločajo snovi, ki služijo za obrambo pred napadalci in feromone.

1.2 Pomen listnih uši

Listne uši povzročajo neposredno škodo med hranjenjem na rastlinah. Ker so drobne žuželke, jih pogosto opazimo šele po znamenjih napada na rastlinah. Znamenja napada opazimo kot različne kodravosti, razbarvanja, zvijanje listov in poganjkov, izrastke, deformacije cele rastline ali le posameznih tkiv. Pri lesnatih rastlinah lahko zaradi napada listnih uši les pozneje dozori. Nekatere vrste gliv se naselijo na mano, kar vidimo kot sajavost na rastlinah. Te ovirajo fotosintezo in transpiracijo, kar slabi rastline. Mana privablja tudi mravlje, kar kaže na napad pravih listnih uši. Zelo pomembna je posredna škoda, ki jo nekatere vrste listnih uši povzročajo s prenašanjem Potivirusov in Luteovirusov na zdrave rastline. Večina prenašalk potivirusov pripada podružini Aphidinae in vključuje rodove *Myzus*, *Aphis* in *Macrosiphum*. Uspešne prenašalke potivirusov so v glavnem polifagne vrste in sicer *Myzus persicae* - siva breskova uš, *Aphis gossypii* - bombaževčeva uš, *Aphis craccivora*, *Aphis fabae* - črna fižolova

uš idr. (Kerry in sod., 2001). Uspešnost prenosa teh virusov pa pogojuje več dejavnikov kot je oblika pravih listnih uši (krilate, nekrilate), razdalja naleta, prelet uši s prvotnega na drugotnega gostitelja in vrste gostiteljske rastline.

Z vidika znanosti so prave listne uši zanimive, ker pri njih lahko opazujemo biotično pomembni proces razmnoževanja (oviparno, viviparno), spolni dimorfizem, sezonski polimorfizem in številčnost rodov na leto. Raziskovalci ugotavljajo, da pojav krilatih oblik listnih uši poleg endogenih dejavnikov izzove prenaselitev oziroma gostota populacije listnih uši, kakovost gostiteljske rastline ter toplota in fotoperiodizem. Nastanek spolnih oblik pa povzroči skrajševanje dolžine dneva v jeseni (Schaeffers in Judge, 1971). Ker se listne uši hitro odzovejo na spremembe abiotičnih dejavnikov v okolju jih imenujemo tudi indikatorji okolja.

V obdobju od 2003 do 2008 smo v okviru opazovalno napovedovalne službe za varstvo rastlin na Kmetijskem Inštitutu Slovenije sistematično spremljali dinamiko leta in zastopanost vrst pravih listnih uši (Aphididae) na štirih območjih pridelave semenskega krompirja z namenom, da bi prispevali k pridelavi zdravega sadilnega materiala. Poleg tega smo želeli ugotoviti tudi povezavo med pojavljanjem listnih uši in rastlinskimi virusi. Glavnina dela je potekala v krompiriščih. Zaradi pojavljanja virusa rumene pritlikavosti ječmena (BYDV-Barley Yellow Dwarf Virus) smo v letu 2008 vzorčili tudi v posevkih ozimnih žitih.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Vzorčenje v krompirju

Napoved pojava pravih listnih uši (Aphididae) smo izvajali na štirih območjih pridelave semenskega krompirja: Komenda (Lahovče), Jablje, Šentvid pri Stični ter Libeliče. V krompiriščih smo vzorčili z lovnicami (Moerickovimi) posodami za lovljenje žuželk. Posode smo v času leta žuželk napolnili z vodo do rumenega roba ter dodali nekaj kapljic detergenta (Pril). Vzorce smo jemali dvakrat na teden in jih do analize hranili v 70 % alkoholu pri 5 °C v hladilniku. Identifikacijo smo opravili v entomološkem laboratoriju na Kmetijskem inštitutu Slovenije.

2.2 Vzorčenje v posevkih ozimnih žit

Zastopanost in pojavljanje listnih uši v posevkih ozimnega ječmena *Hordeum vulgare* L. in pšenice *Triticum aestivum* L. smo v letu 2008 spremljali na Mengeškem polju. Od 24. januarja do konca junija smo s posameznih vzorčevalnih točk, ki smo jih opredelili z uporabo lesenega okvirja dimenzij 0.5 m x 0.5 m tedensko jemali žive listne uši. Velikost posamezne njive je bila 1,5 ha, vzorčili pa smo z dvajsetih, naključno razporejenih vzorčevalnih točk. Pri vzorčenju smo ulovljene listne uši shranili v prozorne vrečke in jih še isti dan žive identificirali. Pri delu smo redno ocenjevali razvojne faze ječmena in pšenice po BBCH skali. Vremenske podatke so nam posredovali iz Agencije RS za okolje.

2.3 Identifikacija

Iz dnevnega ulova žuželk v krompiriščih smo izločili prave listne uši, nato pa opravili morfološko identifikacijo. Pri tem smo uporabili stereomikroskopsko lupo Nikon SMZ-2T (20x povečava). Posebno pozornost smo namenili virusonosnim vrstam, pri tem pa smo uporabili identifikacijske ključe: Blackman 1974; Blackman in Eastop 1985, Blackman in Eastop 1994, Taylor 1984. Primerke vrst, za katere smo bili v dvomih, smo uporabili za molekularno identifikacijo, ki smo jo prav tako opravili na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Pri molekularni identifikaciji smo uporabili metodo določanja nukleotidnega zaporedja DNA in sicer 708 bp dolgo regijo gena za citokrom oksidazo I (COI) v mitohondrijski DNA.

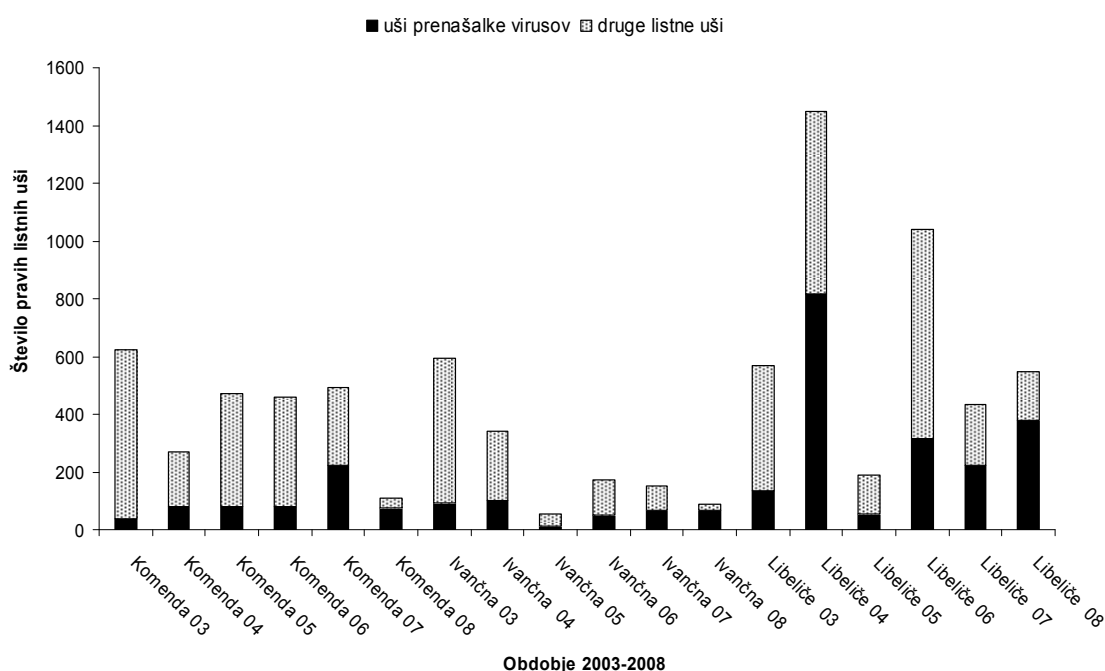
Vsako leto smo spremljali virusonosne vrste listnih uši: *Acyrtosiphon pisum* (Harris 1776), *Aphis fabae* (Scopoli 1763), *Aphis pomi* De Geer 1773, *Aphis frangulae* Kaltenbach 1845,

Aphis nasturtii Kaltenbach 1843, *Aulacorthum solani* Kaltenbach 1843, *Brachycaudus cardui* (Linnaeus 1758), *Brachycaudus helichrysi* (Kaltenbach 1843), *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus 1758), *Capitophorus hippophaes* Walker 1852, *Cavariella aegopodii* (Scopoli 1763), *Cavariella pastinaceae* (Linnaeus 1758), *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas 1878), *Metopolophium dirhodum* (Walker 1849), *Myzus ascalonicus* Doncaster 1946, *Myzus certus* (Walker 1849), *Myzus pericae* Sluzer 1776, *Phorodon humuli* (Schrank 1801), *Rhopalosiphum insertum* (Walker 1849), *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus 1758) in *Sitobion avenae* (Fabricius 1775).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

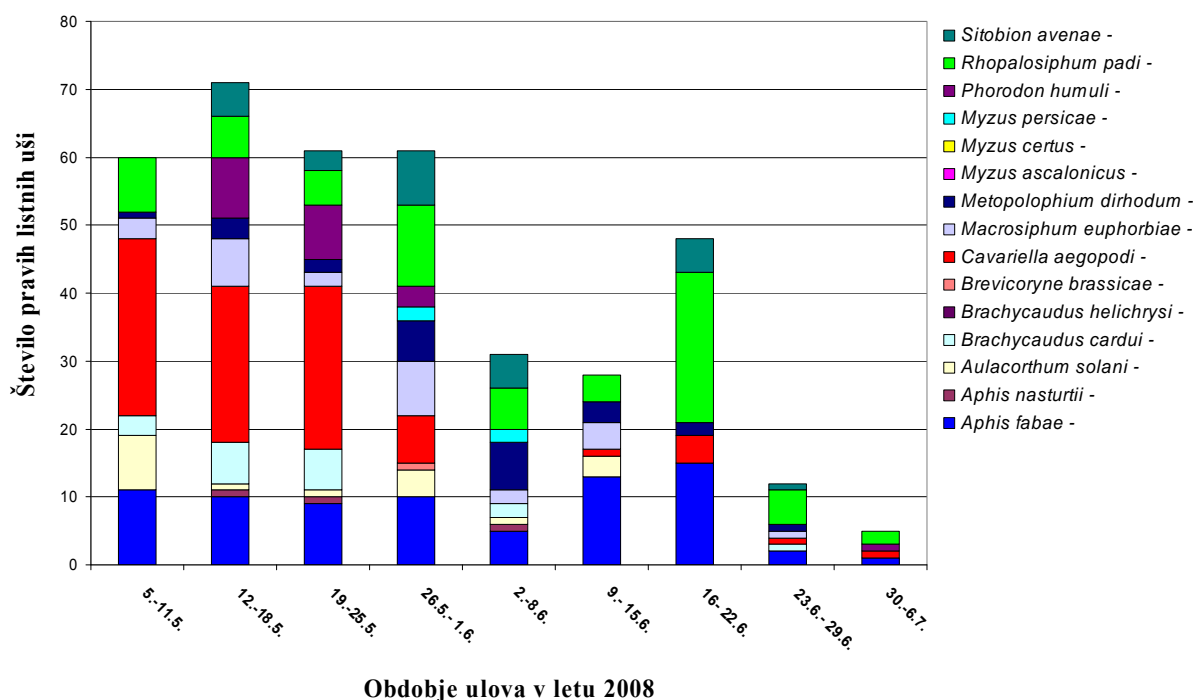
3.1 Rezultati vzorčenja v krompirju

Ugotovili smo, da se je intenzivnost ulova določenih vrst listnih uši razlikovala po območjih in je bila največja v Libeličah (slika 1). Leta 2008 je bila v posevkih semenskega krompirja v Libeličah med spremljanimi virusonosnimi vrstami najštevilčnejša korenjeva listna uš *Cavariella aegopodi*, šele nato črna fižolova uš *Aphis faba* ter čremsova uš *Rhopalosiphum padi*. Po številčnosti ulova sta sledili velika žitna uš *Sitobion avenae* in velika krompirjeva uš *Macrosiphum euphorbiae*, ki sta se lovili v enakem obsegu. Od spremljanih virusonosnih vrst nismo ujeli le vrste *Myzus ascalonicus* in *Myzus certus* (slika 2). Obe vrsti sta pri nas že bili zastopani. Največ ujetih listnih uši družine Aphididae je pripadalo rodu *Aphis*. Prve osebkke virusonosnih listnih uši smo ugotovili v začetku maja, ulov je naraščal in dosegel kulminacijo konec maja oziroma v začetku junija, nato je nalet prenašalk virusov začel upadati.



Slika 1: Razmerje med virusonosnimi vrstami in drugim vrstami listnih uši v posameznih letih na treh lokacijah v nasadih semenskega krompirja.

Figure 1: Relation between viruliferous and other aphid species in the individual years in the three areas of potato seed production.



Slika 2: Pojavljanje virusonosnih vrst listnih uši (Aphididae) v nasadu semenskega krompirja v Libeličah, v letu 2008.

Figure 2: Presence of viruliferous aphid species (Aphididae) in the area of potato seed production in Libeliče in the year 2008.

3.2 Rezultati vzorčenja v posevkih ozimnih žit

Preglednica 1: Zastopanost pravih listnih uši (Aphididae) na Mengeškem polju v posevku pšenice - *Triticum aestivum* L. leta 2008.

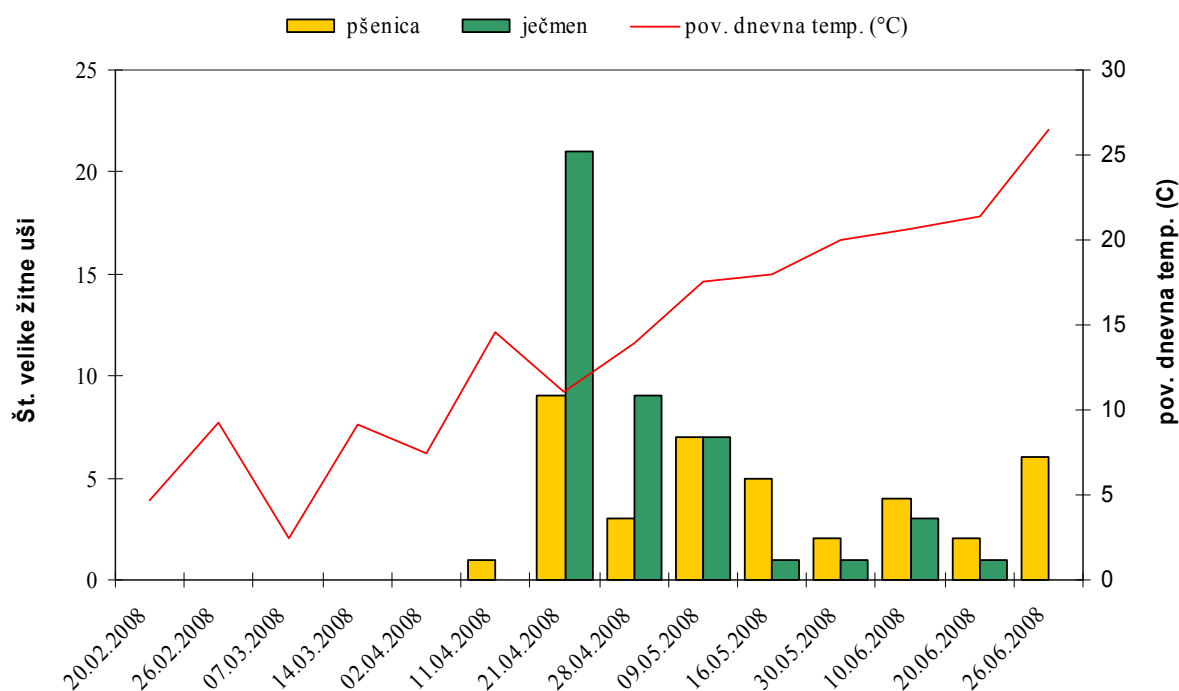
Table 1: Presence of aphid species (Aphididae) in wheat (*Triticum aestivum* L.) in Mengeško polje in the year 2008.

Vzorčenje		Temp. (°C)	BBCH skala	Oblika		Identifikacija		Vrsta listne uši
Teden	Datum			Krilata	Nekrilata	Morf.	Molekul.	
1	20. 02. 2008	4,7	23	0	0			0
2	26. 02. 2008	9,3	23	0	0			0
3	07. 03. 2008	2,4	25	0	0			0
4	14. 03. 2008	9,2	25	0	0			0
5	02. 04. 2008	7,4	29	0	0			0
6	11. 04. 2008	14,6	31	1	0	+		<i>Sitobion avenae</i>
7	21. 04. 2008	11,1	32 - 33	6	3	+		<i>Sitobion avenae</i>
8	28. 04. 2008	13,9	32	2	1	+		<i>Sitobion avenae</i>
9	09. 05. 2008	17,6	37	3	4	+		<i>Sitobion avenae</i>
10	16. 05. 2008	18	52	2	3	+	+	<i>Sitobion avenae</i>
11	30. 05. 2008	20	65	1	1	+	+	<i>Sitobion avenae</i>
12	10. 06. 2008	20,6	70	2	2	+	+	<i>Sitobion avenae</i>
13	20. 06. 2008	21,4	73	1	1	+	+	<i>Sitobion avenae</i>
14	26. 06. 2008	26,5	75	1	5	+		<i>Sitobion avenae</i>
				19	20			1

Preglednica 2: Zastopanost pravih listnih uši (Aphididae) na Mengeškem polju v posevku ječmena - *Hordeum vulgare* L. leta 2008.

Table 2: Presence of aphid species (Aphididae) in barley (*Hordeum vulgare* L.) in Mengeško polje in the year 2008.

Vzorčenje		Temp. (°C)	BBCH skala	Oblika		Identifikacija		Vrsta listne uši
Teden	Datum			Krilata	Nekrilata	Morf.	Molekul.	
1	20.02.2008	4,7	23	0	1	+		<i>Rhopalosiphum maidis</i>
2	26.02.2008	9,3	23	0	0			0
3	07.03.2008	2,4	25	0	0			0
4	14.03.2008	9,2	25	0	0			0
5	02.04.2008	7,4	29	0	0			0
6	11.04.2008	14,6	31	0	0			0
7	21.04.2008	11,1	32 - 33	13	8	+		<i>Sitobion avenae</i>
8	28.04.2008	13,9	37	4	5	+		<i>Sitobion avenae</i>
9	09.05.2008	17,6	59	2	5	+		<i>Sitobion avenae</i>
10	16.05.2008	18	69	1	0	+	+	<i>Sitobion avenae</i>
11	30.05.2008	20	75	1	0	+		<i>Sitobion avenae</i>
12	10.06.2008	20,6	75	2	1	+	+	<i>Sitobion avenae</i>
13	20.06.2008	21,4	75	0	1	+	+	<i>Rhopalosiphum padi</i>
14	26.06.2008	26,5	77	0	0	+		<i>Sitobion avenae</i>
				23	21			3



Slika 3: Dimika leta velike žitne uši - *Sitobion avenae* F. na pšenici in ječmenu.

Figure 3: Flight dynamics of cereal aphid *Sitobion avenae* F. on wheat and barley.

Rezultati vzorčenja pravih listnih uši so v posevkih ozimnega ječmena in ozimne pšenice na Mengeškem polju pokazali pojav velike žitne uši (*Sitobion avenae* Fabricius), čremsove uši (*Rhopalosiphum padi* Linnaeus) in koruzne uši (*Rhopalosiphum maidis*). Najštevilčnejša je

bila velika žitna uš. Ta se je prvič pojavila 11. aprila in dosegla kulminacijo 21. aprila. Lovili smo jo vse do mlečne zrelosti žit. Številčnejša je bila na ječmenu. V topli zimi 2007/08 smo posamezne osebkke nekrilatih listnih uši na žitu opazili že januarja in februarja.

3.3 Identifikacija

Preglednica 3: Vrste listnih uši, ki smo jih po morfološki identifikaciji potrdili tudi z molekularno analizo.
Table 3: Morphologica and molecular identification of aphid species.

Lokacija	Vrsta listne uši
Libeliče	<i>Nasonovia ribisnigri</i> (Mosley) - solatna listna uš
Libeliče	<i>Adelges laricis</i> Vallot
Libeliče	<i>Rhopalosiphum padi</i> (Linnaeus) - čremsova uš
Libeliče	<i>Macrosiphoniella</i> sp.
Libeliče	<i>Brachycaudus helichrysi</i> (Kaltenbach) - zelena češpljeva uš
Libeliče	<i>Cavariella theobaldi</i> (Gillett & Bragg)
Šentvid pri Stični	<i>Myzus cerasi</i> Fabricius - črna češnjeva uš
Šentvid pri Stični	<i>Acyrtosiphon pisum</i> (Harris)
Mengeško polje	<i>Sitobion avenae</i> Fabricius - velika žitna uš
Mengeško polje	<i>Rhopalosiphum padi</i> (Linnaeus) - čremsova uš

Večine vrst listnih uši, ki gospodarsko niso pomembne, nismo identificirali z molekularnimi metodami, ker njihova nukleotidna zaporedja še niso v javnih bazah podatkov nukleotidnih zaporedij.

4 SKLEPI

- Na podlagi večletnega spremljanja dinamike leta pravih listnih uši (Aphididae) z rumenimi lovnimi posodami smo ugotovili, da je največja dinamika leta virusonosnih vrst listnih uši v krompirju konec maja in v začetku junija.
- Z monitoringom v krompiriščih smo ugotovili, da se v rumene lovne posode najbolj pogosto in najbolj številčno lovijo vrste iz rodu *Aphis*.
- V toplih zimah brez snega lahko pri nas listne uši prezimijo v posevkih ozimnih žit.
- Identifikacija nekaterih gospodarsko pomembnih vrst listnih uši je mogoča tudi z molekularnim pristopom, kar je še posebej primerno, kadar imamo poškodovane osebkke, ki jih z morfološko identifikacijo težko določimo.

5 ZAHVALA

Najlepše se zahvaljujemo prav vsem, ki so sodelovali pri praktični izvedbi dela raziskave v posevkih semenskega krompirja!

6 LITERATURA

- Blackman, R. 1974. Aphids. Great Britain by Tinling. 175.
- Blackman, R.L., Eastop, V.F. 1994. Aphids on the world's trees.. University Press, Cambridge, US. 987.
- Blackman, R.L., Eastop, V.F. 1985. Aphids on the world's crops. An identification guide. The Bath Press, Avon. 466.
- Kerry, F.H., Oney, P.S., James, E.D. 2001. Virus-Insect-Plant Interaction. Academic Press, San Diego 376.
- Modic, Š., Urek, G. 2008. Prispevek k poznavanju favne listnih uši (Sternorrhyncha: Aphidoidea) Slovenije. Acta Entomologica Slovenica, 16, 1: 87 - 97.
- Olivera Petrović-Obradović. 2003. Biljne vaši (Homoptera: Aphididae) Srbije. Poljoprivredni fakultet Univerzitetu u Beogradu, Beograd-Zemun, 153.

- Remaudiere, G., Remaudiere, M. 1997. Catalogue of the World's Aphididae. Homoptera. Aphidoidea. INRA Editions, Paris 473.
- Schaefers, G.A., Judge, F.D. 1971. Effects of temperature, photoperiod, and host plant on alary polymorphism in the aphid, *Chaetosiphon fragaefolii*. Journal of Insect Physiology, 17, 2: 365-379.
- Taylor, L.R. 1984. A handbook for aphid identification manuel d'identification des pucerons. C.E.C., D.G., VI Dir. F - Div. 4. Integrated and biological control programe. 171.

ŠKRŽATKI, ULOVLJENI V VINOGRADIH JV SLOVENIJE V LETIH 2007 IN 2008

Karmen RODIČ¹, Gabrijel SELJAK², Andreja PETERLIN³, Domen BAJEC¹, Smiljana TOMŠE⁴

^{1,3,4}KGZS, Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto, Novo mesto

²KGZS, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica, Nova Gorica

IZVLEČEK

V letih 2007 in 2008 smo na območju JV Slovenije (Dolenjska, Bela Krajina ter Posavje) v sklopu nadzora trsnih rumenic spremljali tudi vrstno pestrost škržatkov (Auchenorrhyncha), ki so znani naravni prenašalci teh vrst fitoplazem. Spremljanja smo izvajali na vinski trti in v podrasti. Spremljanja je potekalo obe leti v obdobju med julijem in septembrom. Lov smo izvajali z entomološko mrežo (kečerjem) in sesalnikom. Ulovljene osebkne smo shranjevali v 96% etanol in jih pošiljali v določitev v Entomološki laboratorij KGZS – Zavod Nova Gorica. V letu 2007 so bili odvzeti vzorci na 5 lokacijah, v letu 2008 pa na 4 lokacijah, v katerih je bil velik delež okuženih trsov s simptomi rumenic. Določenih je bilo 50 vrst škržatkov, od tega 31 v letu 2007 in 19 v 2008. V obeh letih je bil na 4 lokacijah ulovljen prenašalec zlate trsne rumenice (Grapevine flavescence dorée phytoplasma) *Scaphoideus titanus* Ball. Vrsta *Hyaletthes obsoletus* Signoret je glavni prenašalec fitoplazme počrnelosti lesa (Grapevine bois noir phytoplasma), ki smo ga v lovilnem obdobju našli v vinogradih, prav tako pa smo zabeležili kar nekaj vrst, ki bi po navedbah v literaturi lahko bile potencialni prenašalci omenjene fitoplazme. Med njimi so: *Anaceratagallia ribauti* (Ossiannilsson), *Emelyanoviana mollicula* (Boheman), *Errastunus ocellaris* (Fallen), *Macrosteles viridigriseus* (Edwards), *Macrosteles laevis* Ribaut, *Mocuellus collinus* (Boheman), *Nealiturus fenestratus* (Herrich-Schaeffer) in *Psammotettix alienus* (Dahlb.).

Ključne besede: JV Slovenija, pestrost vrst, *Scaphoideus titanus*, škržatki, trsne rumenice

ABSTRACT

LEAF- AND PLANTHOPPERS CAUGHT IN VINEYARDS OF SOUTHEASTERN SLOVENIA IN 2007 AND 2008

In the framework of the regular survey of grape yellows in 2007 and 2008 the occurrence of some leaf- and planthoppers (Auchenorrhyncha) in vineyards of SE Slovenia (Dolenjska, Bela Krajina and Posavje) was monitored as well. Special attention was paid to species, which are known as natural vectors of grape yellows. The species diversity was monitored separately on vine canopy and on the undergrowth vegetation. Samplings were performed in the period from July until September in both years. Samples were collected with an entomological net (catcher) and entomological aspirator. Specimens caught were stored in 96% ethanol and sent for identification to the Laboratory for entomology at Agricultural and forestry service Nova Gorica. Samples were taken from 5 localities in 2007 and 4 localities respectively in 2008, mostly from vineyards heavier diseased by grape yellows. Altogether 48 species were recognized; 31 in 2007 and additional 17 in 2008. The leafhopper *Scaphoideus titanus* Ball, known as the vector of Grapevine flavescence dorée phytoplasma (FD) was

¹ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska 14, SI-8000 Novo mesto

² mag., Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica

³ dipl. ing. agr. in hort., Šmihelska 14, SI-8000 Novo mesto

⁴ mag., prav tam

caught in 4 localities in both years. *Hyalesthes obsoletus* Signoret known as the main vector of Grapevine bois noir phytoplasma was also found in 3 localities. Some other species that could be considered as potential vectors of above-mentioned diseases were noted, among them: *Anaceratagallia ribauti* (Ossiannilsson), *Emelyanoviana mollicula* (Boheman), *Errastunus ocellaris* (Fallen), *Macrosteles viridigriseus* (Edwards), *Macrosteles laevis* Ribaut, *Mocuellus collinus* (Boheman), *Neoaliturus fenestratus* (Herrich-Schaeffer) and *Psammotettix alienus* (Dahlb.).

Key words: grape yellows, leaf- and planthoppers, *Scaphoideus titanus*, SE Slovenia

1 UVOD

Bolezenska znamenja tipa trsnih rumenic, ki jih lahko povzroča več tipov fitoplazem, so bila v Sloveniji prvič opažena v letu 1983 v Kozani v Goriških Brdih (Seljak, 1991). Hkrati je bil v tem delu Slovenije odkrit tudi prenašalec zlate trsne rumenice – ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus* (Ball)) (Seljak, 1985; Seljak, 1987). V okviru sistematičnega nadzora trsnih rumenic, ki ga v Sloveniji izvajamo od leta 2002 je bila v letu 2005 prvič potrjena zlata trsna rumenica, ki jo povzroča fitoplazma Grapevine flavescence dorée, na lokaciji v Spodnjih Škofijah pri Koprju. Navedena fitoplazma je reguliran škodljivi organizem, razvrščen na seznam II.A.II direktive 2000/29/ES (UL L št. 169 z dne 10.07.2000), na katerem so škodljivi organizmi, katerih vnos in širjenje v državah članicah se prepovesta, če se jih najde na določenih rastlinah ali rastlinskih proizvodih. Ker se rumenice vinske trte zelo hitro širijo, smo v sklopu sistematičnega nadzora na območju JV Slovenije v letih 2007 in 2008 dali večji poudarek vrstni pestrosti škržatkov (Auchenorrhyncha), ki so znani naravni prenašalci fitoplazem. Spremljanja smo izvajali na vinski trti in v podrasti v obdobju od julija do septembra.

2 MATERIALI IN METODE

Spremljanje pestrosti vrst škržatov smo v letu 2007 izvedli na 5 lokacijah, v letu 2008 pa na 4.

Lokacije v letu 2007:

Posavje:

- Gora nad Krškim (x: 5091389, y: 535705)
- Sremič (x: 5092771, y: 538342)
- Sromlje (x: 5093986, y: 546761)

Dolenjska

- Lisec (x: 5058930, y: 528304)

Bela Krajina:

- Vinomer (x: 5059204, y: 528003)

Lokacije v letu 2008:

Posavje:

- Pleterje (x: 5.092.138, y: 541917)
- Stojanski vrh (x: 5081301, y: 543594)
- Piroški vrh (x: 5080739, y: 542855)

Bela Krajina:

- Dobliče (x: 5.046.180, y: 511090)

Zastopanost škržatkov smo spremljali z entomološko mrežo (kečerjem) in sesalnikom v obdobju od julija do septembra. Škržatke smo lovili v podrasti kot tudi na vinski trti. Ulovljene osebkne smo shranjevali v 96% etanol in jih pošiljali v določitev v Entomološki laboratorij KGZS – Zavod Nova Gorica.

Vrsta ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus* (Ball)) (leto 2007, lokaciji Lisec in Vinomer) je bila iz Entomološkega laboratorija KGZ – Zavod Nova Gorica poslana v analizo glede trsnih

rumenic v laboratorij NIB. Ista vrsta je bila poslana na NIB glede fitoplazem tudi v letu 2008 iz lokacije Pleterje ter en vzorec mešanih vrst škržatkov nalovljenih na lokaciji Stojanski vrh. Vrsta škržatkov je bila določena na podlagi morfoloških značilnosti ulovljenih osebkov. Pri določanju vrst škržatkov iz taksonomsko težjih rodov je bila napravljena sekcija genitalnega aparata samcev. Pod stereomikroskopom smo genitalni segment samca previdno odstranili s preparirno iglo in ga nekaj minut macerirali v 10 % KOH. Morfološke značilnosti genitalnega segmenta smo opazovali neposredno v macerirni raztopini KOH ali pa smo macerirani genitalni segment za nekaj minut prenesli v destilirano vodo in ga nato opazovali v glicerolu. V primerih, ko so bile v vzorcu samo samice takšnih rodov, bi bila določitev do ravni vrste nezanesljiva, zato je bila napravljena le do ravni roda.

3 REZULTATI

V preglednicah 1 in 2 je pregled vrst, ki so bile ugotovljene med nadzorom vektorjev trsnih rumenic.

Preglednica 1: Seznam vrst škržatkov ulovljenih na različnih lokacijah v letu 2007

Table 1: List of leaf- and planthoppers caught in vineyards in 2007

Gora nad Krškim (25.09.2007)			
Vrsta (Species)	Družina (Family)	Št. osebkov (num. of subjects)	Trta ali podrast (Vine and undergrowth vegetation)
<i>Philaenus spumarius</i> (Linnaeus)	Aphrophoridae	3	Trta in podrast (Vine and undergrowth vegetation)
<i>Anaceratagallia ribauti</i> (Ossiannilsson)	Cicadellidae	2	
<i>Balclutha frontalis</i> (Fieber)		2	
<i>Chlorita paolii</i> (Ossiannilsson)		1	
<i>Emelyanoviana mollicula</i> (Boheman)		2	
<i>Errastunus ocellaris</i> (Fallen)		3	
<i>Eupelix cuspidata</i> (Fabricius)		1	
<i>Euscelis incisus</i> (Kirschbaum)		1	
<i>Jassargus obtusivalvis</i> (Kirschbaum)		1	
<i>Ophiola decumana</i> (Kontkanen)		2	
<i>Psammotettix alienus</i> (Dahlb.)		2	
Sremič (25.09.2007)			
<i>Dicranotropis hamata</i> (Boheman)	Delphacidae	1	Podrast (Undergrowth vegetation)
<i>Laodelphax striatellus</i> (Fallen)	Cicadellidae	7	
<i>Cicadella viridis</i> (Linnaeus)		2	
<i>Emelyanoviana mollicula</i> (Boheman)		1	
<i>Errastunus ocellaris</i> (Fallen)		1	
<i>Euscelis incisus</i> (Kirschbaum)		1	
<i>Mocuellus collinus</i> (Boheman)		1	
<i>Nealiturus fenestratus</i> (Herrich-Schaeffer)		3	
<i>Psammotettix alienus</i> (Dahlb.)		1	
<i>Zyginidia pullula</i> (Boheman)		1	

... nadaljevanje preglednice 1 (continuation of table 1)...

Sromlje (02.08.2007)			
<i>Scaphoideus titanus</i> Ball	Cicadellidae	2	Trta in podrast (Vine and undergrowth vegetation)
<i>Stictocoris picturatus</i> (J. Sahlberg)		1	
<i>Jassargus obtusivalvis</i> (Kirschbaum)		2	
<i>Arboridia ribauri</i>		1	
<i>Psammotettix</i> sp.		1	
<i>Hyalesthes obsoletus</i> Signoret	Cixiidae	2	
<i>Reptalus panzeri</i> (Low)		1	
<i>Dicranotropis hamata</i> (Boheman)	Delphacidae	2	
Lisec (07.08.2007)			
<i>Aphrophora alni</i> (Fallen)	Aphrophoridae	1	Trta (Vine)
<i>Philaenus spumarius</i> (Linnaeus)		2	
<i>Scaphoideus titanus</i> Ball		13* + 1	
<i>Empoasca vitis</i> (Goethe)		1	Podrast (Undergrowth vegetation)
<i>Deltocephalus pulicaris</i> (Fallen)	Cicadellidae	8	
<i>Eupteryx notata</i> Curtis		1	
<i>Macrosteles viridigriseus</i> (Edwards)		1	
<i>Javesella dubia</i> (Kbm.)	Delphacidae	2	
Vinomer (07.08.2007)			
<i>Alebra albostriella</i> (Fallen)	Cicadellidae	1	Trta (Vine)
<i>Scaphoideus titanus</i> Ball		6*	
<i>Errastunus ocellaris</i> (Fallen)	Cicadellidae	1	Podrast (Undergrowth vegetation)
<i>Macrosteles laevis</i> Ribaut		1	
<i>Psammotettix alienus</i> (Dahlb.)		1	
<i>Laodelphax striatellus</i> (Fallen)		1	
<i>Toya propinqua</i> (Fieber)	Delphacidae	3	

* vzorci poslani laboratorij NIB na analizo glede fitoplazem

* samples sent to laboratory of NIB ...

Preglednica 2: Seznam vrst škrtatkov ulovljenih na različnih lokacijah v letu 2008

Table 2: List of leaf- and planthoppers caught in vineyards in 2008

Vrsta / species	Družina (Family)	Datum (Date)
<i>Philaenus spumarius</i> (Linnaeus)	Aphrophoridae	07.08.-19.08.2008
<i>Dicranotropis hamata</i> (Boheman)	Delphacidae	
<i>Laodelphax striatellus</i> (Fallen)	Cicadellidae	
<i>Anaceratagallia</i> sp.		
<i>Arthaldeus pascuellus</i> (Fallen)		
<i>Balclutha punctata</i> (Fabricius)		
<i>Chlorita</i> sp.		
<i>Deltocephalus pulicaris</i> (Fallen)		
<i>Errastunus ocellaris</i> (Fallen)		
<i>Eupteryx notata</i> Curtis		
<i>Euscelis incisus</i> (Kirschbaum)		
<i>Jassargus</i> sp.		
<i>Macrosteles cristatus</i> Ribaut		
<i>Macrosteles quadripunctulatus</i> (Kirschbaum)		
<i>Mocytia crocea</i> (Herrich-Schaeffer)		
<i>Neoliturus fenestratus</i> (Herrich-Schaeffer)		
<i>Ophiola decumana</i> (Kontkanen)		
<i>Recilia schmidtgeni</i> (Wagner)		
<i>Scaphoideus titanus</i> Ball		

4 SKLEPI

Vzorci škržatkov so bili odvzeti na devetih lokacijah (leta 2007 na petih, 2008 na štirih). Na vseh vzorčenih lokacijah je bil velik delež okuženih trsov s simptomi rumenic. Skupno je bilo določenih 50 vrst škržatkov, od tega 31 v letu 2007 in 19 v letu 2008. Škržatke smo lovili v podrasti in na trti. Večji del vrst je bil ulovljen v podrasti, med tem ko so bile naslednje vrste ulovljene neposredno na trti: *Scaphoideus titanus* (Ball), *Empoasca vitis* (Goethe), *Alebra albostriella* (Fallen), *Aphrophora alni* (Fallen), *Philaenus spumarius* (Linnaeus). Pri natančni analizi pestrosti vrst smo na koncu lahko podali sklep, da se večina vrst ulovljenih škržatkov pojavlja in je bila potrjena na našem ozemlju (Seljak, 2003, 2004). V seznamu najdemo tudi glavnega prenašalca zlate trsne rumenice (Grapevine flavescence dorée phytoplasma), ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus* (Ball)), ki naj bi bil na ozemlju RS znan že od leta 1983 (Seljak, 1975, 1977, 2008). Bolj temeljito pa njegovo razširjenost spremljamo od leta 2002, ko smo tudi začeli s posebnimi nadzori trsnih rumenic. Njegov pojav na območju jugovzhodne Slovenije smo prvič potrdili v letu 2005. V letu 2007 smo omenjenega škržatka ulovili na treh lokacijah (Sromlje, Dobrnič in Vinomer), v letu 2008 pa samo na eni lokaciji (Pleterje). V obeh letih smo škržatka ulovili neposredno na trsu vinske trte. Vrsta *Hyalesthes obsoletus* Signoret je glavni prenašalec fitoplazme počrnelosti lesa (Grapevine bois noir phytoplasma), ki smo ga v lovilnem obdobju v letu 2007 našli samo v enem vinogradu (vzrok gre iskati v tem, da je bila vrsta ulovljena dokaj pozno glede na njegov čas pojavljanja (02. 08. 2007)). V letu 2008 ga nismo ulovili (prepozno lovljenje glede na čas pojavljanja škržatka). Zabeležili pa smo kar nekaj vrst, ki bi po navedbah v literaturi lahko bile potencialni prenašalci omenjene fitoplazme na zelnatih rastlinah v podrasti. Med njimi so: *Anaceratagallia ribauti* (Ossiannilsson), *Emelyanoviana mollicula* (Boheman), *Errastunus ocellaris* (Fallen), *Macrosteles viridigriseus* (Edwards), *Macrosteles laevis* Ribaut, *Mocuellus collinus* (Boheman), *Neotalitrus fenestratus* (Herrich-Schaeffer) in *Psammotettix alienus* (Dahlb.).

V obeh letih smo neposredno na vinski trti ulovili osebke ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus* (Ball)) in v podrasti različne vrste škržatkov, ki smo jih nato poslali v analizo v laboratorij NIB, kjer so jih testirali glede fitoplazem. Rezultati analiz niso potrdili vsebnosti fitoplazem v poslanih vzorcih.

5 LITERATURA

- Bosco, D., Galetto, L., Leoncini, P. 2007. Pattern of chrysanthemum yellows phytoplasma multiplication in three leafhopper vector species (Cicadellidae Deltocephalinae). *Bulletin of Insectology*, 60 (2): 227-228.
- Decante, D., Helden, M., 2006. Population ecology of *Empoasca vitis* (Göthe) and *Scaphoideus titanus* (Ball) in Bordeaux vineyards: Influence of migration and landscape. *Crop Protection* (Elsevier) 25 (2006): 696-704.
- Riedle-Bauer, M., Tiefenbrunner, W., Otreba, J., Hanak, K. 2006. Epidemiological observations on Bois Noir in Austria vineyards. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 56: 177-181.
- Riedle-Bauer, M., Sára, A., Regner, F. 2008. Transmission of Stolbur Phytoplasma by the Agalliinae Leafhopper *Anaceratagallia ribauti* (Hemiptera, Auchenorrhyncha, Cicadellidae). *Journal of Phytopathology*, vol. 156 Issue 11-12, pag.: 687-690.
- Sforza, R., Clair, D., Daire, X., Larrue, J., Boudon-Padieu, E. 2008. The role of *Hyalesthes obsoletus* (Hemiptera: Cixiidae) in the Occurrence of Bois Noir of Grapevines in France. *Journal of Phytopathology*, vol. 146 Issue 11-12, pag.: 549-556.
- Seljak G. 1985: Cikada *Scaphoideus titanus* Ball (=S. *littoralis* Ball) u primorskem vinogradarskom rajonu zapadne Slovenije. *Glasnik zaštite bilja* VIII (2): 33-37.
- Seljak, G. 1987: *Scaphoideus titanus* Ball (=S. *littoralis* Ball), novi štetnik vinove loze u Jugoslaviji. *Zaštita bilja* 38 (4), št. 182: 349-357.
- Seljak, G., 1991. Je nova bolezen vinske trte na Primorskem zlata trsna rumenica? *SAD*, II (4), 16-19.

- Seljak, G., Matis, G., Miklavc, J., Beber, K. 2003. Identifikacija potencialnih naravnih prenašalcev trsnih rumenic v Podravski vinorodni deželi. Zbornik predavanj in referatov 6. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin Zreče, 4.-6. marec 2003. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2003: 283-288.
- Seljak, G. 2004. Contribution to the knowledge of planthoppers and leafhoppers of Slovenia (Hemiptera: Auchenorrhyncha). *Acta entomologica Slovenica*. Ljubljana, 2004: 189-216.
- Seljak, G. 2008. Distribution of *Scaphoideus titanus* in Slovenia: its new significance after the first occurrence of grapevine "flavescence dorée". *Bulletin of Insectology*, 61 (1): 201-202.
- Tóthová, M., Tóth, P., Cagáň, L. 2004. Leafhoppers, planthoppers, froghoppers and cixiids (Auchenorrhyncha) on pigweeds as vectors of plant diseases. *Acta fytotechnica et zootechnica*, vol. 7: 322-326.

NOVE PLEVELNE VRSTE V SLOVENIJI – OCENA DINAMIKE PREHODA IZ RUDERALNIH V PLEVELNE ZDRUŽBE NJIV IN TRAJNIH NASADOV

Mario LEŠNIK¹

¹ Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Maribor

IZVLEČEK

V prispevku je predstavljena dinamika prehajanja nekaterih novih (neofitnih) plevelnih vrst iz ruderalnih plevelnih združb v plevelne združbe njiv in trajnih nasadov Slovenije. Obravnavane so plevelne vrste iz naslednjih rodov: *Amaranthus*, *Acalifa*, *Ambrosia*, *Artemisia*, *Asclepias*, *Aster*, *Bidens*, *Chenopodium*, *Commelina*, *Conyza*, *Cyperus*, *Dittrichia*, *Echinochloa*, *Eleusine*, *Euphorbia*, *Iva*, *Nicandra*, *Senecio*, *Setaria*, *Sporobolus*, *Solanum*, *Panicum*, *Phalaris*, *Physalis*, *Paspalum*, *Phytollaca*, *Polygonum*, *Reynoutria*, *Sycious*, *Tagetes* in druge. Podane so ocene potencialne gospodarske škodljivosti obravnavanih vrst v bodočnosti.

Ključne besede: pleveli, plevelne združbe, populacijska dinamika, poljščine, trajni nasadi, Slovenija

ABSTRACT

NEW WEED SPECIES IN SLOVENIA – ESTIMATION OF DYNAMICS OF TRANSITION FROM RUDERAL TO FIELD CROP AND PERENNIAL CROP WEED COMMUNITIES

The dynamics of transition of new (neophyte) weed species from ruderal to field crop and perennial crop weed communities of Slovenia is presented. Weed species included in the study are members of the following genera: *Amaranthus*, *Acalifa*, *Ambrosia*, *Artemisia*, *Asclepias*, *Aster*, *Bidens*, *Chenopodium*, *Commelina*, *Conyza*, *Cyperus*, *Dittrichia*, *Echinochloa*, *Eleusine*, *Euphorbia*, *Iva*, *Nicandra*, *Senecio*, *Setaria*, *Sporobolus*, *Solanum*, *Panicum*, *Phalaris*, *Physalis*, *Paspalum*, *Phytollaca*, *Polygonum*, *Reynoutria*, *Sycious*, *Tagetes* and others. Estimates about the potential future economic impacts of studied species are included.

Key words: weeds, weed communities, population dynamics, field crops, perennial crops, Slovenia

1 UVOD

Pojavu novih plevelnih vrst v Sloveniji namenjamo le majhno strokovno pozornost. Tudi pleveli lahko, kot tujerodne karantenske bakterije, glive in žuželke povzročijo veliko gospodarsko škodo (Pimentel *et al.*, 2000). Neopazno se začnejo razvijati na ruderalnih rastiščih in od tam polagoma preidejo na pridelovalna zemljišča. Ko se pojavijo prve težave z zatiranjem, navadno njihove invazije ni mogoče več ustaviti in pogosto nova vrsta postane trajen predstavnik naše plevelne flore.

Ena od težav pri omejevanju pojava novih plevelov je premalo sistematičen nadzor nad dogodki v naravi in pomanjkanje podatkov o škodljivosti novih vrst v našem okolju. V množici rastlin (potencialno med 3000 in 4000 vrst), ki se po bolj ali manj naravni poti lahko

¹ izr. prof., dr. agr. znan., Pivola 10, SI-2311 Hoče

od drugod preselijo v naše okolje je potrebno pravočasno opozoriti na tiste, ki so zares škodljive. Po nekaterih ocenah je v novih okoljih zares škodljivih manj kot 5 % preseljenih vrst rastlin. Značilne primere plevelov, ki jim je v preteklosti uspela invazija našega ozemlja dobro poznamo (npr. *Amaranthus retroflexus*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Galinsoga ciliata*, *Abutilon theophrasti*, *Sorghum halepense*, *Solidago canadensis*, ...).

Na naša vrata trkajo številni njihovi sorodniki, ki jim bo naseljevanje našega ozemlja prav tako zelo verjetno uspelo. Preseljevanja rastlin v celoti ni možno preprečiti tudi pri zelo strogih karantenskih ukrepih. Na tiste najbolj agresivne vrste je dobro pravočasno opozoriti, da že ob začetnem pojavu začnemo izvajati ukrepe proti hitremu razširjanju.

Natančno je potrebno opredeliti tudi vrste škode, ki so v nekem okolju pomembne. Podatki glede neposredne škode pri gojenih rastlinah, ki jo nove vrste lahko povzročijo, so razmeroma dobro dostopni, če preprosto prevzamemo izkušnje iz nam primerljivih okolij. Podatkov o ostalih, predvsem okoljskih vidikih škode ni možno preprosto pridobiti, niti prenesti v naše ali tuje okolje (Weber in Gut, 2004). Mednje spadajo na primer kompleksni učinki na redke ranljive združbe rastlin in živali, ki jih želimo dolgotrajno ohraniti. V tem prispevku so predstavljeni komentarji glede pojavnosti nekaterih plevelnih rastlin, ki so se začele pojavljati na ruderalnih rastiščih pri nas, bodisi v daljšem preteklem obdobju, bodisi v zadnjih nekaj letih. Predstaviti želimo nekatere ocene obsega prehoda iz ruderalnih rastišč na pridelovalna zemljišča. Nekatero rastline uspejo v zelo kratkem času preiti iz ruderalnih rastišč na pridelovalna zemljišča, pri nekaterih pa lahko ti procesi trajajo dolga desetletja ali celo več kot stoletje. Zapisi o pojavljanju v nekem obdobju so dober pripomoček za razumevanje časovne dinamike naseljevanja pridelovalnih rastišč in za napovedi ter ukrepanje v bodoče.

2 METODE DELA

V prispevku so podane nekatere ocene o pojavnosti novih vrst rastlin, ki so nastale na podlagi nesistematičnih opazovanj plevelnih populacij po celotnem ozemlju RS. Ocene o pojavnosti niso opremljene z geografskimi podatki, ker tukaj to ni bil namen. V preglednicah, kjer so spiski novih vrst so podane ocene o obsegu prehoda, velikosti izhodiščnih populacij, izvoru in potencialni škodljivosti. Ocene so bile opravljene na podlagi opazovanj v naravi v obdobju zadnjega desetletja. Naredili smo jih po skupinah rastlin, v glavnem po družinski ali rodovni sorodnosti. V tem prispevku niso omenjene vse vrste, ki so jih botaniki pri nas zabeležili kot nove. Omenili smo le vrste, kjer smo našli rastline na pridelovalnih zemljiščih (njive, travniki, trajni nasadi, ...) ali v njihovi bližini.

V preglednicah smo označili potencialne poti vnosa in pri tem uporabili naslednje kratice: **PRID** – vnos pri uvozu pridelkov, **KRM** – uvoz hrane (krme) za domače živali in hišne ljubljence, **OKZDR** – vnos kot okrasna, zdravilna ali užitna vrtna rastlina, **RSUB** – vnos v rastnih substratih (originalno pakiranje ali substrati posajenih lončnic), **TRANS** – prenos ob splošnem transportu (semena slepi potniki na čevljih in obleki, na avtomobilih, ...). Podane so tudi ocene glede ustalitve prvih populacij na ruderalnih rastiščih (**URP**) in na pridelovalnih zemljiščih (**UPP**). Oznaka **DA** pomeni, da smo opazili ustaljene populacije rastlin, ki omogočajo potencialno trajno ohranitev v našem okolju, ocena **NE**, da lahko najdemo le posamične rastline, ki trenutno še ne omogočajo trajne ohranitve in bi jih lahko označili z oznako prehodna - adventivna - efemerofitna vegetacija. Ocene o potencialni gospodarski škodljivosti so podane glede na izkušnje s temi rastlinami v drugih okoljih in glede na predvidevanja za možnosti njihovega razvoja pri nas.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Pojavnost novih vrst iz družin Amarantaceae, Chenopodiaceae in Polygonaceae

V družinah Amarantaceae, Chenopodiaceae in Polygonaceae poznamo zelo veliko število vrst, ki bi potencialno lahko naselile naše ozemlje. Poti vnosa so različne. Vnosi s pridelki, s transportom ali kot gojene rastline so si po frekventnosti skoraj enakovredni. Te vrste imajo drobna semena, ki jih zelo težko v popolnosti odstranimo iz pošiljk blaga. Izmed ščirov, ki prihajajo v naše okolje je potrebno omeniti predvsem vrsto *A. rudis*, ki je zelo agresiven njivski plevel, hkrati pa jo omenjajo, kot vrsto, katere pelod lahko povzroča alergije pri ljudeh.

Preglednica 1: Ocene stopnje ustalitve novih vrst na ruderalnih in pridelovalnih rastiščih (Amarantaceae, Chenopodiaceae in Polygonaceae)

Latinsko poimenovanje:	Poti vnosa:	URP	UPP	GŠ
<i>Amaranthus deflexus</i> L.	TRANS	DA	NE	M
<i>Amaranthus albus</i> L.	TRANS	DA	NE	M
<i>Amaranthus rudis</i> (L.) Saur.	PRID	NE	NE	V
<i>Amaranthus viridis</i> L. (<i>A. gracilis</i> Desf.)	PRID, TRANS	NE	NE	S
<i>Amaranthus palmeri</i> S. Watson	OKZDR	NE	NE	Z
<i>Amaranthus caudatus</i> L.	OKZDR	NE	NE	Z
<i>Amaranthus oleraceus</i> L. <i>A. blitum</i> L. subsp. <i>oleraceus</i> (L.) Costea	OKZDR	NE	NE	M
<i>Amaranthus blitoides</i> S. Watson	TRANS	DA	NE	M
<i>Amaranthus blitum</i> L. subsp. <i>emarginatus</i> (Moq. ex Uline & Bray) Carretero	SUBSTRATI	DA	DA	M
<i>Amaranthus tricolor</i> L.	OKZDR	NE	NE	M
<i>Amaranthus cruentus</i> L.	OKZDR	DA	NE	M
<i>Amaranthus dubius</i> Mart. ex Thell.	OKZDR, TRANS	DA	NE	S
* <i>Chenopodium probstii</i> Aell.	PRID	NE	NE	S
* <i>Chenopodium missouriensis</i> Aell.	PRID	NE	NE	S
<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	OKZDR	NE	NE	M
<i>Chenopodium giganteum</i> D. Don. <i>C. amaranticolor</i> (Coste.&Reyn.) Coste.&Reyn	OKZDR	NE	NE	S
* <i>Chenopodium centrorubrum</i> Makino * <i>C. album</i> L. var. <i>centrorubrum</i>	TRANS	NE	NE	S
<i>Polygonum orientale</i> L.	OKZDR	DA	DA	S
<i>Reynoutria japonica</i> Houtt.	OKZDR	DA	DA	V
<i>Reynoutria sachalinensis</i> F. Schmidt	OKZDR	DA	NE	V
<i>Fallopia baldschuanica</i> (Regel) Holub	OKZDR	NE	NE	S
GŠ – potencialna gospodarska škoda: V – velika, S – srednje velika, M – majhna, Z- zanemarljiva. Obstoj prvih ustaljenih populacij na ruderalnih (URP) ali pridelovalnih URP površinah. * Potrebna natančnejša preučitev vrstne pripadnosti.				

Večji del vrst ščirov, ki jih gojimo za okras ali prehrano ne predstavlja nevarnosti za povzročanje izgub pridelkov gojenih rastlin, ker se zelo slabo ohranjajo na njivah. Njihovo seme zelo hitro propade ali pa semen sploh ne uspejo oblikovati zardi predolge rastne dobe (npr. *A. palmeri*). Vrste *A. deflexus*, *A. albus*, *A. blitum* in *A. blitoides* imajo sposobnost ohranjanja, vendar imajo v naših razmerah zelo nizko tekmovalno sposobnost proti poljščinam, tako, da na njivah ne uspejo razviti večjih populacij. Večina novih vrst metlik pride v naše kraje s transportom (tovorni cestni in železniški promet) in se začne razvijati ob transportnih poteh. Nekaj semen uvozimo s pridelki, nekatere vrste pa ljudje gojijo, kot zelenjavo na vrtovih. Nobena od naštetih vrst še ni izoblikovala populacij, ki bi se ustalile. Za mnoge vrste metlik je značilno izrazito efemerofitno pojavljanje. V družini Polygonaceae

beležimo izrazit porast populacij orientalske dresni (*P. orientale*), ki se ponekod že pojavlja kot žitni plevel. Širjenje dresnikov (*Reynoutria* sp.) je nezadržno in ponekod imamo ob robovih njiv in trajnih nasadov tako velike populacije, da prehajajo tudi v notranjost parcel in že povzročajo izgube pridelkov. Tudi grmasti dresnik (*F. baldschuanica*) je lahko potencialno nevarna vrsta za trajne nasade, če bi ga pustili, da se neovirano razvija na slabo vzdrževanih brežinah.

3.2 Pojavnost novih vrst iz družin Solanaceae, Euphorbiaceae in Asclepiadaceae

Preglednica 2: Ocene stopnje ustalitve novih vrst na ruderalnih in pridelovalnih rastiščih (Solanaceae, Euphorbiaceae in Asclepiadaceae)

Latinsko poimenovanje:	Poti vnosa:	URP	UPP	GŠ
<i>Solanum luteum</i> Miller	TRANS, PRID	DA	DA	M
<i>Solanum sarrachoides</i> Sendtn.	TRANS, PRID	NE	NE	S
<i>Solanum nitidobaccatum</i> Bitter	TRANS, PRID	NE	NE	M
<i>Solanum elaeagnifolium</i> Cavanilles	OKZDR	NE	NE	S
<i>Nycandra physalodes</i> (L.) Scop.	OKZDR	NE	NE	S
<i>Physalis angulata</i> L.	OKZDR	NE	NE	M
<i>Physalis peruviana</i> Poha	OKZDR	NE	NE	M
<i>Datura innoxia</i> Mill.	OKZDR	NE	NE	M
<i>Datura ferox</i> L.	OKZDR	DA	NE	M
<i>Datura metel</i> L.	OKZDR	NE	NE	M
<i>Euphorbia lathyris</i> L.	OKZDR	DA	NE	M
<i>Euphorbia maculata</i> L.	TRANS	DA	NE	M
<i>Euphorbia marginata</i> Pursh.	TRANS	NE	NE	Z
<i>Euphorbia prostrata</i> Aiton	TRANS	DA	DA	M
<i>Euphorbia characias</i> L.	OKZDR	NE	NE	S
<i>Acalypha virginica</i> L.	PRID	DA	DA	S
<i>Asclepias syriaca</i> L.	OKZDR, KRM	DA	NE	S
GŠ – potencialna gospodarska škoda: V – velika, S – srednje velika, M – majhna, Z- zanemarljiva. Obstoj prvih ustaljenih populacij na ruderalnih (URP) ali pridelovalnih URP površinah.				

V družini Solanaceae lahko tudi v prihodnje pričakujemo večje priseljevanje novih vrst. Največ novih vrst pride k nam na način, da jih ljudje gojijo na vrtovih za okras ali kot zdravilne rastline. Pri razhudnikovkah moramo biti zelo kritični, saj so vmesni gostitelji številnih gospodarsko pomembnih virusov in bakterij, ki lahko močno ogrozijo pridelavo krompirja, paradižnika in paprike. V rodu *Solanum* dejansko obstaja veliko vrst, ki bi se kot hitrorastoče enoletnice lahko ustalile pri nas. Večletna vrsta *S. elaeagnifolium* je povsod po Sredozemlju označena, kot karantenska. Polagoma prodira proti nam iz obmorskih predelov vzdolž Jadranske obale. Vrtničkarje bi bilo potrebno opozoriti, da je ne bi sadili, kot okrasno rastlino. Možnosti za ustalitev vrst iz rodov *Physalis*, *Nycandra* in *Datura* na pridelovalnih zemljiščih so majhne, ker imajo počasen razvoj in jih ob spraviu zatremo, preden je seme zrelo. Vrsti *N. physaloides* in *P. angulata* bi morda lahko na Primorskem postali potencialen žitni ali vrtninski plevel. Na njivah jih najdemo, ker seme pride tja s kompostom, kamor vrtničkarji rastline odvržejo jeseni ob koncu rastne dobe.

Večina vrst iz rodu *Euphorbia* pride v naše kraje preko transportnih poti ali kot okrasne rastline. Večinoma imajo zelo nizko tekmovalno sposobnost in ne predstavljajo večje nevarnosti. Tudi navedb, da bi bile vmesni gostitelji povzročiteljev bolezni ni veliko. Morda je smiselno omeniti predvsem vrsto *E. lathyris*, pri kateri na robovih njiv, pašnikov in trajnih nasadov že lahko opazimo skupke več deset rastlin, ki uspejo oblikovati seme, kar kaže na možnost oblikovanja velikih populacij. Vrsta *A. virginica* ima vse značilnosti pravega njivskega plevela. Prve populacije na koruznih njivah v Vipavski dolini smo že opazili, kar

kaže na ustalitev vrste. V tem rodu je še veliko plevelov, ki se lahko uspešno naselijo pri nas, zato je pri njih potrebna previdnost. V družini Asclepiadaceae poznamo veliko svetovno pomembnih plevelov. Potrebno bi bilo odsvetovati gojenje vseh vrst iz te družine, posebej tistih, ki imajo kratko rastno dobo ali možnost vegetativnega razmnoževanja. Prva izmed njih, ki se je začela širiti pri nas, je sirska svilnica. Iz izkušenj iz bližnjih držav vemo, da ta vrsta iz roba njiv s pomočjo podzemnih pritlik lahko preide v notranjost njiv, posebej, če pogosto gojimo žita in ne obdelujemo strnišč.

3.3 Pojavnost novih vrst iz družin Gramineae in Cyperaceae

Omejevanje vnosa novih vrst trav je zelo težko, ker imajo te rastline zelo drobna težko prepoznavna semena. Veliko uvažamo travne mešanice iz mnogih delov sveta. Tudi prenos s transportom in z atmosferskimi pojavi je zelo intenziven. Dodatno je odkrivanje teh rastlin težavno, ker imamo malo dobrih poznavalcev trav. V tej skupini je veliko efemerofitnih predstavnikov, ki se občasno pojavijo in ponovno izginejo. Značilen primer so trave iz rodu *Phalaris*. Pri takšnihle je še posebej težko napovedovati nadaljnji razvoj. Iz efemerofitnega vzorca pojavljanja lahko sklepamo, da verjetno gre za večkratne ponavljajoče se vnose, vendar se izhodiščne populacije ne morejo ustaliti, ker pri nas zanje ni ustreznih razmer. Semena trav iz rodu *Phalaris* so pogosto v ptičji hrani.

Preglednica 3: Ocene stopnje ustalitve novih vrst na ruderalnih in pridelovalnih rastiščih (Gramineae in Cyperaceae)

Latinsko poimenovanje:	Poti vnosa:	URP	UPP	GŠ
<i>Phalaris minor</i> Retz.	KRM, TRANS	NE	NE	M-S
<i>Phalaris paradoxa</i> L.	KRM, TRANS	NE	NE	M-S
<i>Phalaris canariensis</i> L.	KRM, TRANS	NE	NE	M-S
<i>Echinochloa phyllopogon</i> Stapf	KRM	NE	NE	S
<i>Echinochloa colonum</i> (L.) Link	KRM	NE	NE	M
<i>Echinochloa crus-pavonis</i> Schult.	KRM	NE	NE	S
<i>Echinochloa erecta</i> Pollacci	KRM	NE	NE	S
<i>Paspalum dilatatum</i> Poiret	TRANS	NE	NE	S
<i>Eleusine indica</i> Gaertner	TRANS	DA	NE	M
<i>Setaria italica</i> (L.) Beauv.	KRM, TRANS	DA	DA	M
<i>Setaria macrocarpa</i> Luchnik (<i>S. faberi</i>)	KRM, TRANS	DA	NE	S
<i>Panicum dichotomiflorum</i> Michx	PRID	DA	DA	S
<i>Panicum m. ruderales</i> (Kitag.) Tzvel.	PRID	DA	DA	S
<i>Panicum m. agricola</i> Scholz Mikološ	PRID	DA	DA	S
<i>Panicum capillare</i> v. <i>campestris</i> Gatt.	TRANS, PRID	DA	DA	S
<i>Panicum capillare</i> v. <i>capillare</i> L.	TRANS, PRID	DA	DA	S
<i>Polypogon monspeliensis</i> (L.) Desf.	TRANS	NE	NE	M
<i>Sporobolus indicus</i> (L.) R. Br.	TRANS	NE	NE	M
<i>Sporobolus neglectus</i> Nash	TRANS	NE	NE	M
<i>Cyperus esculentus</i> L.	SUBSTRATI	NE	NE	S
<i>Cyperus rotundus</i> L.	TRANS, SUBSTRATI	NE	NE	S

GŠ – potencialna gospodarska škoda: V – velika, S – srednje velika, M – majhna, Z- zanemarljiva.
 Obstoj prvih ustaljenih populacij na ruderalnih (URP) ali pridelovalnih URP površinah.

Pojavnost novih vrst iz rodu *Echinochloa* je pri nas povsem neraziskana. Tudi poti vstopa so neznane (morda gradbena mehanizacija iz Italije). V prispevku omenjene vrste so bile najdene v jarkih ob kmetijskih zemljiščih v neposredni bližini objektov pristanišča Koper, kar kaže na vnos preko transportnih poti. Te vrste so zabeležene v Italiji, kot rastline zamočvirjenih rastišč in riževih polj. Možnosti, da bi se ustalile pri nas so zelo majhne, ker seme dozori zelo pozno v jeseni. Ena od možnosti za ohranjanje je naselitev nevzdrževanih odvodnih jarkov ob njivah

v priobalnem pasu. Večje gospodarske škode ne pričakujemo. Obstaja sum, da se razne vrste iz rodu *Echinochloa* neopazno pojavljajo še kje drugje, vendar jih ne opazimo, ker so podobne raznim tipom navadne kostrebe. Pri vrstah iz rodu *Echinochloa*, *Sorghum* in *Setaria* obstaja bojazen glede razširjanja virusnih in fitoplazmatskih bolezní, če bi se hkrati z njimi k nam preselili tudi novi žuželčni vektorji. V takšnih razmerah bi se lahko na primer pojavile nove bolezni koruze. Pri vrstah iz rodu *Setaria* opažamo porast pojavnosti vrst *S. faberi* in *S. italica* (podivjane forme). Že lahko najdemo njive z omejenimi populacijami. Večinoma gre za zanemarjene njive.

Vrste rodu *Panicum* se tudi zelo uspešno širijo povsod po Evropi. Veliko prispeva ogromen delež koruze v kolobarju in odpornost različnih vrst prosa na herbicide. Nekatere vrste imajo pri nas stoletno zgodovino pa ne povzročajo večjih škod (npr. skupina podvrst *P. capillare*). Lasasta prosa redno najdemo na koruznih njivah, vendar je tekmovalna sposobnost tako majhna, da ne povzročajo resnih izgub pridelkov. Golo proso (*P. dichotomiflorum*) v nasprotju s prejšnjimi zelo hitro napreduje in na mnogih njivah povzroča velike izgube pridelkov. Podobno je pri podivjanih podvrstah iz skupine *P. miliaceum* (*P. ruderale* in *P. agricola*). Na glavnih koruznih območjih se populacije hitro povečujejo, kljub uvajanju novih dokaj učinkovitih herbicidov.

Vrste iz rodov *Sporobolus* in *Eleusine* trenutno ne štejemo za posebej nevarne. Vrsta *E. indica* je v mnogih državah Azije zelo agresiven plevel. Pri nas pa kljub večdesetletnem pojavljanju na ruderalnih rastiščih na njivah ne more oblikovati ustaljenih populacij. Osnovni vzrok je verjetno zelo nizka tekmovalna sposobnost. Podobno velja za vrste rodu *Sporobolus* (*S. neglectus* in *S. indicus*). Predvidevamo, da bo podobno veljalo tudi za vrste iz rodu *Paspalum* (npr. *P. dilatatum* in *P. distichum*), ki si pri nas trenutno ne uspejo oblikovati večjih trajnih populacij niti na ruderalnih rastiščih. Oblikovanje semen je zelo skromno ali pa ga ni. Ostrice in šaši v Sloveniji na njivah ne predstavljajo pomembne skupine plevelov. Morda je nekaj škode na zamočvirjenih travnikih. V manjšem obsegu se je začela pojavljati užitna ostrica (*C. esculentus*). Izvor so verjetno izrabljeni rastni substrati, ki jih vrtnarije s kompostom odpeljejo na njive ali pa gojenje na vrtovih. V odpadkih, potrosenih po njivah, so gomoljčki, ki omogočijo nadaljnji razvoj ostrice. S klimatskimi spremembami lahko pričakujemo povečanje možnosti za razvoj nekaterih subtropskih šašev in ostric. V priobalnem pasu smo našli vrsto *C. rotundus*, ki se širi po Sredozemlju. Lahko je zelo nevšečen plevel njiv z vrtninami, ker se dobro vegetativno ohranja tudi brez oblikovanja semen.

3.4 Pojavnost novih vrst iz družine Asteraceae

Nebinovke zaradi velike prilagodljivosti in možnosti potovanja semen z vetrom na velike razdalje, sodijo med najbolj uspešne invazivne rastline. V naših razmerah je potrebno izpostaviti predvsem vrste iz rodov *Bidens*, *Conyza*, *Ambrosia*, *Senecio* in *Aster*.

Od vrst rodu *Bidens* opažamo največji obseg prehoda na kmetijska zemljišča pri vrsti *B. frondosa* in *B. vulgata* (zapleveljenost njivskih robov). Vrsti *B. bipinnata* in *B. subalternans* že imata nekaj lokalnih ustaljenih populacij na ruderalnih rastiščih v priobalnem območju. Najdemo ju tudi že v notranjosti Slovenije. Na koruznih njivah uspeta narediti seme pred spravilom pridelka.

Zadnja vrsta v tej skupini *B. pillosa* velja za zelo pomemben plevel v svetovnem merilu. Na njivah je še ne zasledimo. Seme dozoreva precej pozneje, kot pri prejšnjih dveh. Glede na trenutna opazovanja vrsta ne uspe oblikovati semen pred običajnim rokom spravila koruze (do 10. 10.). Če pa koruzno polje pustimo neobdelano do konca oktobra dozori približno 30 % semen.

Vrstam iz rodu *Ambrosia* posvečajo povsod veliko pozornosti. Pri nas smo opazili prve rastline vrste *A. trifida*. Opazovane populacije še ne omogočajo ustalitve te vrste. Vrst *A. coronopifolia*, *A. maritima* in *A. tenuifolia*, katerih pojav beležijo v nekaterih okoliških državah, v Sloveniji še nismo opazili. Trokrpa žvrklja je morda nekaj manj problematična glede povzročanja alergij, je pa izredno tekmovalen plevel, ki ga ni preprosto zatirati. Potrebno ji je nameniti veliko pozornost, da ne bo uspela ustvariti trajnih populacij.

Hudoletnice (*Conyza* sp.) se nezadržno širijo po vsem svetu. Vrsti *C. bonariensis* in *C. sumatrensis* sta verjetno bili zaneseni k nam po naravni poti vzdolž obale Jadranskega morja (Poldini in Kaligarič, 2000). Pri njih ne pričakujemo škode na pridelovalnih zemljiščih. Izjema bi bila, če bi bile izvirne populacije odporne na herbicid glifosat in jih zaradi tega v trajnih nasadih ne bi uspeli zatirati.

Preglednica 4: Ocene stopnje ustalitve novih vrst na ruderalnih in pridelovalnih rastiščih (Asteraceae)

Latinsko poimenovanje:	Poti vnosa:	URP	UPP	GŠ
<i>Bidens pillosa</i> L.	PRID, TRANS	DA	NE	V
<i>Bidens subalternans</i> D.C.	PRID, TRANS	DA	DA	S
<i>Bidens bipinnata</i> L.	PRID, TRANS	DA	DA	S
<i>Bidens connata</i> Mühl.	PRID, TRANS	DA	NE	M
<i>Bidens frondosa</i> L.	PRID, TRANS	DA	DA	S
<i>Bidens cernua</i> L.	TRANS, KRM	NE	NE	M
<i>Bidens vulgata</i> E.L. Greene	TRANS	NE	NE	M
<i>Ambrosia trifida</i> L.	PRID, KRM	NE	NE	V
<i>Iva xanthifolia</i> Nutt.	PRID, KRM	NE	NE	V
<i>Senecio inaequidens</i> DC	TRANS	DA	DA	S
<i>Conyza sumatrensis</i> (Retz.) E. Walker.	TRANS, KRM	NE	NE	M
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronq.	TRANS	NE	NE	M
<i>Siegesbeckia orientalis</i> L.	OKZDR	NE	NE	M
<i>Guizotia abyssinica</i> (L.f.) Cass	OKZDR	NE	NE	S
<i>Aster laevis</i> L.	OKZDR	NE	NE	M
<i>Aster pilosus</i> Willd.	OKZDR	NE	NE	M
<i>Aster lanceolatus</i> Willd.	OKZDR	DA	NE	M
<i>Aster squamatus</i> Sprengel	TREANS	DA	NE	M
<i>Aster novae-angliae</i> L.	OKZDR	DA	NE	M
<i>Tagetes minuta</i> L.	OKZDR	NE	NE	S
<i>Tagetes tenuifolia</i> Cav.	OKZDR	NE	NE	M
<i>Cosmos bipinnatus</i> L.	OKZDR	NE	NE	M
<i>Dittrichia graveolens</i> (L.) Greuter	TRANS	DA	NE	S
<i>Dittrichia (Inula) viscosa</i> (L.) Aiton	TRANS	NE	NE	S
<i>Artemisia annua</i> L.	TRANS	DA	NE	M
<i>Artemisia verlotiorum</i> Lamotte	TRANS	DA	NE	M

GŠ – potencialna gospodarska škoda: V – velika, S – srednje velika, M – majhna, Z- zanemarljiva.
 Obstoj prvih ustaljenih populacij na ruderalnih (URP) ali pridelovalnih URP površinah.

Vrste iz rodu *Dittrichia* se širijo na podoben način, kot vrste rodu *Conyza*. Omeniti je potrebno vrsto *D. graveolens*, ki se je pri nas razširila ob avtocestah. Možen je razvoj v trajnih nasadih. Ker mnoge vrste rodu *Dittrichia* povzročajo kožne alergije predstavljajo pomembno potencialno nevšečnost za ljudi, ki bi pri delu v nasadih prihajali v stik z njimi (Thong *et al.*, 2008).

Vrste iz rodu *Aster* so zelo priljubljene okrasne rastline. Imajo velik razmnoževalni potencial. Prav lahko se zgodi, da bodo čez leta vrste, ki jih sedaj gojimo na vrtovih množično prešle v naravo in bomo imeli velikanske populacije, kot jih sedaj poznamo pri enoletni suholetnici (*Erigeron annuus*). Pri vrsti *Aster lanceolatus* že lahko zasledimo večje populacije na ruderalnih rastiščih in ponekod tudi v trajnih nasadih (slabo vzdrževani jarki, brežine in

ograje). Dobro bi bilo omejiti vsakršno gojenje vrst iz rodu *Aster*. Dodatno so te vrste nosilke virusov in fitoplazem. Pri okrasnih rastlinah iz rodov *Tagetes*, *Cosmos*, *Siegesbeckia* in *Guizotia* so možnosti za oblikovanje večjih populacij na njivah pri nas omejene, vendar previdnost ni odveč. Vrsta *T. minuta* je na primer v Južni Ameriki zelo nevšečen plevel. Vrsto *S. orientalis* v sosednji Italiji že obravnavajo, kot plevel. Od vrst v rodu *Senecio* je potrebno omeniti predvsem vrsto *S. inaequedens*, ki je že začela prehajati iz ruderalnih rastišč v trajne nasade. Pri nas je trajnica, ki se po koncu zime obnovi. Dobro se ohranja na slabo vzdrževanih brežinah. V pregledu nismo posebej omenili vrst iz rodu *Rudbeckia*. Vrsti *R. laciniata* in *R. hirta* si postopno utirata pot v vegetacijo divjine. Populacije *R. laciniata* so ponekod tako velike, da so že moteče pri vzdrževanju odtočnih jarkov ob njivah ali pa se celo vraščajo v notranjost njiv, kjer pride do merljivega zmanjšanja pridelkov žit in koruze. Enako velja za topinambur (*Helianthus tuberosus* L.), ki je zelo nevšečna povsem podivjana rastlina na mnogih njivah.

3.5 Pojavnost novih vrst iz različnih družin z manjšim številom predstavnic

Preglednica 4: Ocene stopnje ustalitve novih vrst na ruderalnih in pridelovalnih rastiščih (Malvaceae, Cruciferae, Cucurbitaceae, Commelinaceae, Apiaceae,)

Latinsko poimenovanje:	Poti vnosa:	URP	UPP	GŠ
<i>Oxalis pes-caprae</i> L.	OKZDR	NE	NE	M
<i>Phytolacca americana</i> L.	TRANS	DA	DA	M
<i>Phytolacca acinosa</i> Roxb.	TRANS	NE	NE	M
<i>Impatiens glandulifera</i> Royle	OKZDR	DA	NE	S
<i>Bassia (Kochia) scoparia</i> (L.) A.J. Scott	OKZDR	DA	NE	M
<i>Heracleum mantegazzianum</i> Somm in Levier	OKZDR	NE	NE	M-S
<i>Commelina communis</i> L.	OKZDR	DA	NE	Z
<i>Sicyos angulatus</i> L.	OKZDR, TRANS	NE	NE	M
<i>Calepina irregularis</i> (Asso) Thell.	PRID	DA	DA	M
<i>Lepidium virginicum</i> L.	TRANS	DA	DA	M
<i>Brassica juncea</i> (L.) Czern.	PRID	DA	DA	M
<i>Abutilon theophrasti</i> Med.	PRID	DA	DA	V
GŠ – potencialna gospodarska škoda: V – velika, S – srednje velika, M – majhna, Z- zanemarljiva. Obstoj prvih ustaljenih populacij na ruderalnih (URP) ali pridelovalnih URP površinah.				

Poleg velikega števila do sedaj omenjenih novih plevelov je potrebno omeniti še nekatere. Prva je divja bučka vrste *Sicyos angulatus*. Pojav te bučke ima podobne zakonitosti, kot jih je imel pred leti pojav vrste *Echinocystis lobata*. Uspešno se vzpenja po grmovni in drevesni vegetaciji. Na njivah nima možnosti za razvoj, ker jo lahko s herbicidi in mehanskimi ukrepi poškodujemo do takšne stopnje, da ne uspe oblikovati semen. Razraščanje v zanemarjenih trajnih nasadih ni izključeno. Opazili smo, da se z rastlin v vetrovnem vremenu sproščajo dlačice, ki izredno močno dražijo oči in kožo, kar kaže na možnost ogrožanja zdravja ljudi. Barvilnice iz rodu *Phytolacca* lahko na ruderalnih rastiščih oblikujejo velike lokalne populacije. Z ameriško barvilnico močenje zapleveljene njive in trajni nasadi tudi niso več redkost. Vrsta *P. acinosa* se je v zadnjih neka letih začela pojavljati v obliki posameznih rastlin. V letih 2007 in 2008 smo pri opazovanju ugotovili, da je trajnica. Obnavlja se iz brstov na odebeljeni koreniki. Velika sposobnost ohranjanja na vegetativen način bi ji morda lahko omogočila obstoj tudi na manj intenzivno vzdrževanih pridelovalnih zemljiščih. Metlovec (*B. scoparia*) že veliko let opazujemo na ruderalnih rastiščih in na vrtovih. Kljub temu, da je ta vrsta na izvornih območjih (Amerika) izredno nevšečen plevel, pri nas za poljščine ne predstavlja nikakršne nevarnosti. Razlika med nami in ZDA nastaja zaradi tega, ker se ta vrsta v Ameriki dobro razvija na njivah, kjer izvajajo minimalno obdelavo njivskih površin (»minimum tillage«). Pri konvencionalnih sistemih obdelovanja z oranjem se ta vrsta

ne more uveljaviti, kot njivski plevel. To je primer, kako lahko neka pridelovalna aktivnost vpliva na pomen neke vrste kot plevela.

Tudi v rodu *Impatiens* se v naravi pojavlja vse večje število novih vrst. Trenutno vrste, ki se pojavljajo pri nas ne predstavljajo nevarnih plevelov. Pri križnicah se včasih pojavi kakšna nova vrsta. V zadnjih letih smo opazili porast populacij predvsem vrst *B. juncea* in *C. irregularis*. Verjetno je njuno seme večkrat pomešano s semeni drugih gojenih križnic. Populacije vrste *L. virginicum* se polagoma povečujejo ponekod v trajnih nasadih. Zatiranje ni težavno. Na njivah se ne uspe razvijati. Pri slezenovkah je potrebno omeniti predvsem vrsto *A. theophrasti*, ki se je uspela trajno razširiti po njivskih zemljiščih celotne države. Pri kobilnicah na kmetijskih zemljiščih nismo opazili pojavov novih vrst. Orjaški dežen, ki je ušel iz botaničnih vrtov se za zdaj ne uspe širiti na pridelovalnih zemljiščih.

Pojavnost novih vrst pri nas je primerljiva s sosednjimi državami (Lohmeyer in Sukopp, 2001; Walter *et al.*, 2005; Rabitsch in Essl, 2004; Anonimno, 2007; Boršič *et al.*, 2008). Po podatkih iz publikacije Alien flora of Europe (Lambdon *et al.*, 2008) imamo na ozemlju Slovenije približno 750 vrst rastlin kategoriziranih kot neofitne vrste, takšne, ki izvirajo zunaj geografskih območij naše širše okolice. Če upoštevamo, da imamo pri nas približno 3200 vrst rastlin, jih je torej približno ena četrtnina tujih. To kaže na velik dotok tujih vrst v zadnjih stoletjih. Trend se nadaljuje s povečano hitrostjo. Posebej obsežen je pojav novih vrst v priobalnem območju z milejšo zimo (Jogan, 2005). Tujerodne rastline iz sub-tropskih območij tam uspejo oblikovati seme in se ohraniti. Pozneje se polagoma širijo v notranjost Slovenije.

Poleg klimatskih sprememb in izrazito povečane trgovine z blagom na velike razdalje imajo pomembno vlogo tudi nekatere spremembe v kmetijski pridelavi. Opuščanje vzdrževalnih in čistilnih del (košnja mejic, razgonov), opuščanje obdelave strnišč, začasno opuščanje kmetijske pridelave na sploh, prenehanje vzdrževanja trajnih nasadov so prakse, ki lahko invazivnim rastlinam omogočijo preživetje v kritičnih obdobjih ob začetku invazije. Do sedaj smo zaradi tujerodnih plevelov (npr. pri *A. theophrasti*, *A. artemisiifolia* in *S. halepense*) utrpeli le lokalne zmerne škode, ki nas niso prisilile v neko oprijemljivo ukrepanje. Morda nas lahko v bodoče zaradi neukrepanja čakajo neprijetna presenečenja.

Dokaj dobro uspemo evidentirati pojav novih vrst, od tam naprej pa so aktivnosti preveč skromne, da bi lahko aktivno posegli v dogajanja v naravi. Dokler bo tako, bomo le opazovalci dogajanj in ne bomo uspeli uveljavljati svojih ekonomskih in estetskih želja glede usmerjanja poti razvoja narave in vegetacijskih sukcesij.

4 SKLEPI

1. V Sloveniji smo podobno, kot v sosednjih državah, priča množičnemu priseljevanju novih rastlinskih vrst po naravni in antropogeni poti.
2. Glede na množičnost pojava novih vrst rastlin je potrebno izdelati strategije za ocenjevanje učinkov (gospodarskih, zdravstvenih, ekoloških, ...) novih vrst rastlin.
3. Potrebno je izdelati navodila za postopke uvoza in trženja gojenih - divjih rastlin.
4. Ker nekaterim neofitnim vrstam rastlin uspe preiti iz ruderalnih rastišč na pridelovalne površine je potrebno izdelati spiske rastlin, katerih pojavljanje je potrebno nadzirati, oziroma omejiti njihov vnos zaradi možnosti pojava gospodarske ali okoljske škode.

5 LITERATURA

- Anonimno, 2007. Slovenian contribution to the EU-mixed submission. Views and experiences for the in-depth review of work on invasive alien species (IAS). Notification 2006 – 116 of the CBD Secretariat. (<http://www.cbd.int/doc/submissions/ias/ias-si-2007-en.pdf>).
- Boršič, I., Milović, M., Dujmović, M., Bogdanović, S., Cigić, P., Rešetnik, I., Nikolić, T., Mitić, B. 2008. Preliminary check-list of invasive alien plant species in Croatia. *Natura Croatica* 17, 2: 55-71.

- Jogan, N. 2005. Plant invaders in coastal Slovenia; V: Brunel, S. (ur.). Invasive Plants in Mediterranean Type Regions of the World. Proceedings of the International Workshop. Meze, France, 25-27 May 2005, s. 230.
- Lambdon, P.W., Pyšek, P., Basnou, C., Hejda, M. 2008. Alien flora of Europe: Species diversity, temporal trends, geographical patterns and research needs. *Preslia*, 80: 101–149.
- Lohmeyer, W. in Sukopp, H. 2001. Agriophyten in der Vegetation Mitteleuropas. 1. Nachtrag. V: Brandes, D. (ur.) Adventivpflanzen. Beiträge zur Biologie, Vorkommen und Ausbreitungsdynamik von Archäophyten und Neophyten in Mitteleuropa. V8 - Publikation Universitätsbibliothek Braunschweig, Braunschweig, 179-220.
- Pimentel, D., Lach, L., Zuniga, R., Morrison, D. 2000. Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States. *Bioscience*, 50: 53–65.
- Poldini, L. in Kaligarič, M. 2000. *Bidens pilosa* and *Conyza sumatrensis*, two new naturalised species in the flora of Slovenia. *Annales*, 10: 77–80.
- Rabitsch, W. in Essl, F. 2004. Non-indigenous species in Austria: results of a national inventory. V: Kühn, I. in Klotz, S. (ur.) Biological Invasions: Challenges for Science. *Neobiota*, 3: 77-82.
- Walter, J., Essl, F., Englisch, T., Kiehn, M. 2005. Neophytes in Austria: Habitat preferences and ecological effects. V: Nentwig, W. (ur): Biological Invasions – From Ecology to Control. *Neobiota*, 6: 13-25.
- Weber, E. in Gut, D. 2004. Assessing the risk of potentially invasive plant species in central Europe. *Journal for Nature Conservation* 12:171-179.
- Thong, H.Y., Yokota, M., Kardassakis, D., Maibach, H.I. 2007. Allergic contact dermatitis from *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter (stinkwort). *Contact Dermatitis*, 58, 1: 51-52.

ZATIRANJE PLEVELA Z OŽIGANJEM

Rajko BERNIK¹, Filip VUČAJNK², Aleš ZVER³

^{1,2,3}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

V letu 2007 smo v Sloveniji porabili 1155,2 ton fitofarmaceutskih sredstev (FFS) za pridelavo kmetijskih pridelkov (vir: FURS, 2008). Glede na količino porabljenih FFS, je v slovenskem prostoru dobrodošla vsaka alternativa za varstvo rastlin pred boleznimi, škodljivci in pleveli. Naprava za ožiganje plevelov naj bi zmanjšala porabo herbicidov v poljedelstvu in s tem pripomogla k pridelavi kakovostnejše hrane. Dosedanje izkušnje pri delu z napravo potrjujejo smiselnost nadaljnega dela na področju ožiganja plevelov.

Ključne besede: naprava za ožiganje, ožiganje plevelov, ožiganje, ekološko, fitofarmaceutska sredstva

ABSTRACT

WEED CONTROL WITH FLAMING

In 2007, 1155.2 tons of plant protection products (PPP) were used in Slovenia when growing the crops (source: FURS, 2008). Due to the extended usage of PPP, any alternative in the protection of plants against diseases, pests and weed would be welcome in Slovenia. A weed singeing device could reduce the use of herbicides in the agriculture and thus help to produce food products of higher quality. Experience gained during the work with the above-mentioned device has demonstrated that further work in the field of weed singeing is eligible and welcome.

Key words: weed, fire, burning, organic-production, plant protection products

1 UVOD

V današnjem času, ko kmetijstvo med prebivalstvom vedno bolj velja za enega glavnih virov onesnaževanja okolja, so dobrodošli vsi alternativni ukrepi, s katerimi lahko vsaj delno zmanjšamo porabo fitofarmaceutskih sredstev (FFS). V letu 2007 smo v Sloveniji porabili 1155,2 tone FFS za pridelavo kmetijskih pridelkov (FURS, 2008). Agronomska stroka na osnovi znanstvenih ugotovitev predvsem ugotavlja stanje onesnaženosti v kmetijskem prostoru in omejuje uporabo FFS, manj pa je dejavna na področju uvajanja alternativnih ukrepov za varstvo rastlin pred boleznimi, škodljivci in pleveli in dobre kmetijske prakse. Eden od možnih ukrepov za zatiranje plevelov v posevkih je tudi termični postopek ali ožiganje plevelov.

Prve naprave za ožiganje plevelov, v katerih je bil vir energije petrolej ali bencin, so v Ameriki uporabljali že leta 1852. Preproste naprave so povzročale veliko težav pri vzdrževanju stalnega dovoda toplotne energije na ciljno mesto. Zatiranje plevela s termično metodo so že leta 1940 uporabljali pri kmetovanju v ZDA. Takrat so z ožiganjem zatirali

¹ izr. prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana, e-pošta: rajko.bernik@bf.uni-lj.si

² asist., mag., prav tam

³ asist., univ. dipl. inž. zoot., prav tam

plevele v posevkih v vrstah, kot so bombaž, koruza, krmni sirek in drugi. Prve tovrstne raziskave so izvajali na "Louisiana State University" (Hoffmann, 1989). Sprva so raziskave opravljali na poljih bombaža, kasneje so vključili še posevke koruze in soje. Rezultati raziskav so pri kmetih vzbudili zanimanje in metoda se je v praksi zelo razširila. Konstruktivno izboljšane naprave z utekočinjenim plinom so uporabljali leta 1948 na ameriških farmah pri pridelovanju bombaža, koruze in sladkorne pese. Od tedaj so naprave vedno bolj tehnično izpopolnjevali (Hoffmann, 1989).

V konvencionalni pridelavi kmetijskih pridelkov ožiganje plevelov ni dobra alternativa, zaradi cenovnega neskladja pridelkov iz ekološke oz. konvencionalne pridelave. V ekološki pridelavi, kjer je uporaba herbicidov omejena, ožiganje plevelov pomeni veliko zmanjšanje ročnega dela pri zatiranju plevelov. Zlasti v ekološki pridelavi vrtnin je ožiganje nezamenljiv ukrep, kljub visoki porabi energije v obliki utekočinjenega plina in visoki ceni naprave. Pri ožiganju se sprošča tudi večja količina CO₂.

Termično zatiranje deluje na rastline na dva načina:

- segrevanje rastline do 70 °C povzroči koagulacijo beljakovin v celicah, zaradi česar celice propadejo,
- povečanje temperature na 110 °C povzroči povečanje volumna tekočine v celicah, celice počijo in iz njih izteče tekočina; posledica je izsušitev rastline.

Oba načina delovanja celice tako temeljito spremenita, da se rastlina ne more več prehranjevati, kar povzroči popolno osušitev rastline v 2 do 3 dneh. Potrebno temperaturo ožiganja najlažje dosežemo s tekočim plinom propanom, ki izgoreva v gorilniku s temperaturo okoli 1800 °C; temperatura zraka okoli gorilnika je 300-400 °C. Plast zemlje se v globini 5 mm segreje za 6 - 7 °C, v globini 10 mm pa za 3 - 4 °C (Walsh, 2007). Pri zatiranju plevela je pomemben razvojni stadij rastlin, saj ob upoštevanju tega privarčujemo z energijo (Blumenthal, 2005). S ponavljajočim ožiganjem v določenih časovnih zaporedjih zatremo tudi večletne plevele, saj jim pogosto ožiganje zelo oslabi koreninski sistem. Gojena rastlina medtem zraste in zasenči plevele, ki zaradi izčrpanosti propadejo (Briese, 1995). Za učinkovito izvajanje tega ukrepa je nujno dobro poznavanje razvoja plevelov in gojenih rastlin.

Slovensko podjetje razvija napravo za ožiganje plevela, ki jo preizkušamo na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani. Naprava naj bi bistveno pripomogla k učinkovitemu izvajanju ukrepa zatiranja plevelov z ožiganjem v ekološkem načinu kmetovanja. Naprave za ožiganje so bile v začetku precej drugačne. V gorilnikih je izgoreval petrolej, ustrezen tlak pa so zagotavljali z ročno tlačilko, ki so jo poganjali med ožiganjem plevela. Naprave so se razvijale in ta metoda se je uveljavljala vse do 60. let prejšnjega. Takrat so na trg prišli herbicidi, ki so bili cenovno ugodnejši kot utekočinjen plin. Razvoj naprav za termično zatiranje plevela je po tem zastal, vse do konca 90. let. Z vedno večjim ozaveščanjem o pomembnosti skrbi za naše okolje se je začela spreminjati tehnologija kmetijske pridelave in zakonodaja, ki na področju nanašanja fitofarmaceutskih sredstev postaja strožja. Cene herbicidov so se začele dvigovati, potrošniki želijo naravno pridelano hrano, zato postaja termična metoda zatiranja plevela spet aktualna. Razvoj tehnologije ožiganja plevela je v tem času zelo napredoval in je danes na nivoju, ki omogoča varno, zanesljivo, ergonomsko in tudi ekonomično uporabo teh naprav.

Termična metoda zatiranja plevela temelji na uničenju rastlinskih celic, ki jih onesposobi do take stopnje, da se prekine zmožnost fotosintetske aktivnosti. To ne pomeni, da moramo rastlino zažgati, da zogleni. Rastlina mora biti izpostavljena plamenu le del sekunde in sicer le toliko, da se voda v celici upari.

To lahko preverimo tako, da rastlino stisnemo s prsti in če se na rastlini pozna prstni odtis, so celice uničene. Pri celotni tehnologiji je pomembno, da je gojena rastlina večja od neželene rastline, katero zatiramo. Čim manjše so plevelne rastline, učinkovitejša je metoda.

2 MATERIAL IN METODE DELA

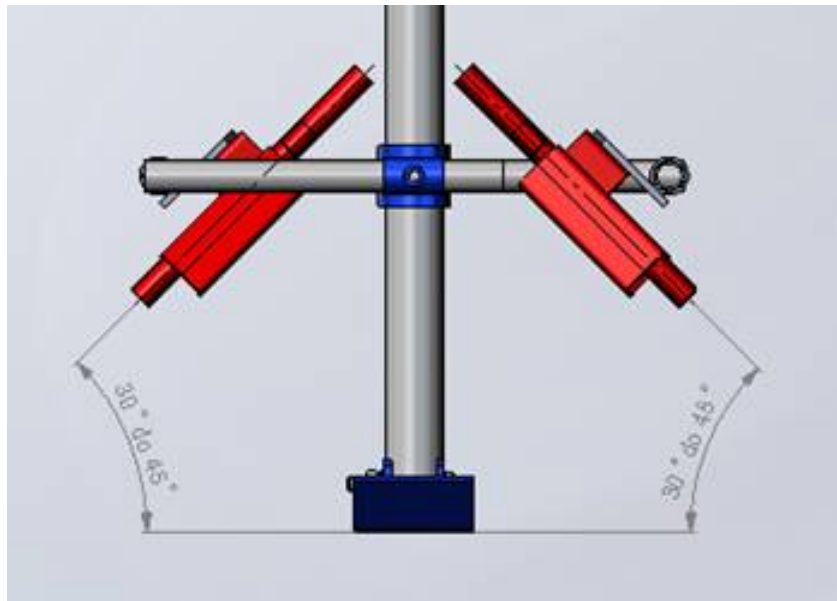
Glavni parametri pri ožiganju so:

- velikost plevelnih rastlin: termična metoda je najučinkovitejša pri manjših rastlinah. Rastline ožigamo preden razvijejo 3-4 liste. Zatiranje manjših rastlin zagotavlja večji uspeh, pri večji hitrosti obdelave in manjši porabi plina (kg/ ha).

- pravočasnost: zelo pomembno pri ožiganju plevela je, da ukrep izvajamo v pravem trenutku. Prvo ožiganje naj se izvaja pred sejanjem ali vsaj preden vzklije gojena rastlina. Na ta način zmanjšamo intenzivno rast plevela v obdobju kalitve semena. S tem zagotovimo, da gojena rastlina prehiti plevel v rasti in je višja od plevela.

- vremenske razmere: vremenske razmere načeloma ne ovirajo dela, vendar najboljši učinek dosežemo v vročem in suhem vremenu.

- naravnavanje naprave za ožiganje: zelo pomembno je, da gorilnik naravnamo na ustrezno višino in pravilen kot usmeritve plamena vertikalno in horizontalno (slika 1). To je predvsem pomembno za gojeno rastlino, ki jo moramo varovati, da je plamen ne oplazi. Če so gorilniki naravnani previsoko, lahko plamen oplazi gojeno rastlino in jo poškoduje.



Slika 1: Nastavitev gorilnika

Poskus ožiganja smo izvajali na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete avgusta 2008. Za preizkus učinka ožiganja smo izbrali dve porasli površini, poljsko pot in travno rušo v sadovnjaku. Poljsko pot smo izbrali zaradi pestre sestave rastlinske združbe, v kateri so bile zastopane eno in večletne rastline. Na travniku so prevladovale večletne trave in metuljnice ter nekatere zeli. Analizirali in evidentirali smo pestrost rastlinske združbe na obeh lokacijah.

Zastopane rastline na posamezni parceli:

- poljska pot: veliki trpotec (*Plantago major*), ozkolistni trpotec (*Plantago lanceolata*), bela detelja (*Trifolium repens*), navadni rman (*Achillea millefolium*), angleška ljuljka (*Lolium perenne*), krvava srakonja (*Digitaria sanguinalis*), muhvič (*Setaria sp.*), njivski slak (*Convolvulus arvensis*), nokota (*Lotus corniculatus*), pirnica (*Elytrigia repens*), njivska preslica (*Equisetum arvense*), navadni gabez (*Symphytum officinale*), ptičja dresen (*Polygonum aviculare*).

- travnik med orehi: bela detelja, črna detelja, travniška latovka, pasja trava, regrad, ljuljka, navadni slak.

Uporabili smo napravo za ožiganje in na njej naravnali:

- površino ožiganja

RP (rastni prostor), površina na kateri je gojena rastlina - pridelek = 43 cm

ROP (razdalja ožigalnega prostora), površina med rastnim prostorom = 32 cm

- oddaljenost gorilnika od tal: višina = 22cm

Na vsaki poskusni parceli smo opravili ožiganje z različnimi voznimi hitrostmi, z enakimi zgoraj opisanimi nastavitvami ožigalne naprave. Za vsako vozno hitrost smo ožigali površino na dolžini 10 metrov.

Po postopku ožiganja smo v naslednjih dneh spremljali vpliv na rastline in njihovo regeneracijo.

Eksperimentalni podatki:

$m_1 = 18,2 \text{ kg}$

$m_2 = 16,8 \text{ kg}$

$t = 23 \text{ min}$

$v = 5 \text{ km/h}$

$B = 3 \text{ m}$

Masa porabljenega plina pri poskusu: $\Delta m = m_1 - m_2 = 18,2 - 16,8 = 1,4 \text{ kg}$

Poraba plina na gorilnik: $Q_1 = \frac{\Delta m}{t} = \frac{1,4}{23} = 0,0608 \text{ kg / min} = 3,652 \text{ kg / h}$

Poraba plina za celotno ožigalno napravo: $Q_{CELOTNA} = Q_1 \cdot c = 3,652 \cdot 8 = 29,2 \text{ kg / h}$

Poraba plina na površino (ha): $Q_{ha} = \frac{Q_{CELOTNA}}{B \cdot v} = \frac{29,2 \cdot 3,6 \cdot 10000}{3600 \cdot 3 \cdot 5} = 19,466 \text{ kg / ha}$

Kazalo okrajšav:

m_1 ... masa jeklenke na začetku ožiganja

m_2 ... masa jeklenke na koncu ožiganja

Δm ... masa porabljenega plina

t ... čas gorenja enega gorilnika

v ... delovna hitrost traktorja

Q_1 ... poraba plina na 1 gorilnik

Q ... poraba plina celotne naprave

Q_{ha} ... poraba plina na hektar obdelanega zemljišča

B ... delovna širina naprave

c število gorilnikov

3 REZULTATI

Rastline, ki so bile zastopane na mestu ožiganja in smo jih določili: veliki trpotec, bela detelja, navadni rman, ozkolistni trpotec, angleška ljuljka, krvava srakonja, navadni muhvič, navadni slak, nokota, pirnica, preslica, navadni gabez, ptičja dresen.

Ožiganje je potekalo pri sledečih delovnih hitrostih: 3 km/h, 1,5 km/h, 0,7 km/h, 0,5 km/h.



Slika 2: Učinek ožiganja 1 dan po ožiganju na travniku

Na sliki 2 vidimo popoln propad nadzemeljskega dela rastlin. Hitrost vožnje: 1,5 km/h.



Slika 3: Učinek ožiganja in obraščanja trave na travinju 7 dni po ožiganju

Na sliki 3 je vidna regeneracija travne ruše 7 dni po ožiganju. Trava in detelja se obraščata normalno, kot po košnji.



Slika 4: Učinek ožiganja in obraščanja trave na travinju 14 dni po ožiganju

14 dni po ožiganju (slika 4) so sledi ožiganja komaj opazne.

4 RAZPRAVA

Glavni namen ožiganja je zatiranje plevelov. S poskusom smo dokazali, da toplotna energija popolnoma uniči nadzemni del večletne rastline. Enoletne rastline ali klijočče rastline z ožiganjem popolnoma uničimo.

V tehnologiji moramo upoštevati tudi gospodarnost ukrepa. Pri predhodno navedenih trenutnih tehničnih parametrih, kot so poraba plina 29,22 kg/h ali posledično pri delovni hitrosti 2 km/h, je poraba plina 48,70 kg/ha. Pri ceni plina 1,9 €/kg strošek ožiganja znaša 92,53 €/ha. Za primerjavo: strošek kemičnega zatiranja plevela s FFS znaša okoli 90 €/ha. Podatek je pridobljen iz »dobre kmetijske prakse«, kar pomeni, informacij pri kmetih in prodajalcih FFS. Strošek obeh ukrepov zatiranja plevela je, glede na trenutno ceno materialnih stroškov, podoben.

S stališča vloženega dela je ožiganje zahtevnejše. Napake pri ožiganju so vidne takoj. Delovna širina naprave je 3 m, tako je tudi več prehodov na obdelovalno zemljišče, hitrost ožiganja pa je manjša kot pri izvajanju kemičnega varstva. Storilnost stroja na enoto površine (ha/h) je manjša kot pri kemičnem zatiranju plevelov. Dolgoročno gledano, kemično varstvo rastlin zahteva večjo odgovornost od izvajalcev ukrepov, vendar se trenutne napake pri delu odkrijejo ali pokažejo šele čez leta, v podtalnici ali morebitnem obolevanju ljudi. Pri ožiganju toplotna energija lahko trenutno povzroči škodo na gojenih rastlinah, negativnih posledic na daljše obdobje pa ni.

5 LITERATURA

Bernik R. Tehnika v kmetijstvu. Mehanična nega in oskrba ter kemično varstvo rastlin. Ljubljana,

- Tiskarna Format Kranj d.o.o.: 167 str.
- Blumenthal D. M. in sod. 2005. Effects of prairie restoration on weed invasions. V: *Agriculture, Ecosystems and Environment* 107 (2005), str. 221–230.
- Briese D.T. 1996. Biological Control of weeds and fire management in protected natural areas: are they compatibles strategies?. *Biological Conservation*, Volume 77, Issues 2-3, 1996, str. 135-141.
- FURS. 2008. <http://www.fito-info.bf.uni-lj.si/Fito2/index.asp>
- Hoffmann M., 1989. *Abflamntechnik*, Münster-Hiltrup, KTBL Schriften Vertrieb im Landwirtschaftsverlag GmbH. 106 str.
- Walsh M., Newman P. 2007. Burning narrow windrows for weed seed destruction V: *Field Crops Research* 104 (2007), str. 24–30.

HERBICIDI V PRVOLETNIH NASADIH HMELJA IN V UKORENIŠČIH

Silvo ŽVEPLAN¹, Magda RAK CIZEJ², Gregor LESKOŠEK³

^{1,2,3}Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec

IZVLEČEK

V poljskem poskusu smo proučevali pet herbicidov v različnih odmerkih in terminih uporabe v prvem letu po sajenju sadik hmelja - CS_A, CS_B (*Humulus lupulus* L.) in fižola (*Phaseolus vulgaris* L.). V prvem letu po sajenju hmelja in v ukoreniščih je za zatiranje plevelov potrebno ogromno ročnega dela. Mnogi hmeljarji v prvoletne nasade hmelja sadijo tudi fižol. Želeli smo dobiti informacije, kako delujejo in vplivajo na rastlino hmelja in fižola nekateri pri nas registrirani herbicidi, katere že uporabljamo v poljedelstvu in vrtnarstvu. Poskus je bil zastavljen bločno, v treh ponovitvah. Poskus smo ocenili po štirih in po osmih tednih od škropljenja. Učinkovitost in fitotoksičnost herbicidov in njihovih kombinacij smo ocenjevali z vizualno procentualno metodo. V skupni oceni obravnavanja smo zajeli učinkovitost na plevelne vrste in morebitno fitotoksičnost za hmelj in fižol. Na podlagi Dobre prakse varstva rastlin in rezultatov opravljenega poskusa je po našem mnenju herbicid Stomp 400 SC, z aktivno snovjo pendimetalin, ustrezen za postopek razširitve registracije za zatiranje plevelov v prvem letu po zasaditvi hmeljišč in v ukoreniščih.

Ključne besede: herbicid, učinkovitost, fitotoksičnost, hmelj, fižol

ABSTRACT

HERBICIDES IN THE FIRST-YEAR HOP PLANTS AND IN PROPAGATION NURSERIES

In the IHPS field experiment, five herbicides in different amounts and terms of use were investigated in the first year after hop - CS_A, CS_B (*Humulus lupulus* L.) and bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plantation. Vast quantum of manual work is required for weeds' extermination in the first year after hop plantation and in propagation nurseries. Many hop growers plant bean in the first-year hop plants too. We wanted to get the information of that how some by us registered herbicides used in agriculture and horticulture act and influence on hop plant and bean. The experiment was blocked made, in three repetitions. The experiment was estimated after four and after eight weeks from spraying. We applied visual percentage method and estimated herbicides' efficacy and phytotoxicity and their combinations.

In common treatment estimation the efficacy on possibly presented weeds and on eventually phytotoxicity for hop and bean were included. Our opinion is that on the basis of Good Plant Protection Practice and on the basis of the results of the experiment made the herbicide Stomp 400 SC with its active substance called pendimetalin is, in our opinion, suitable for procedure of registration' expansion for extermination of weeds in the first year after hop plants planting and in propagation nurseries.

Key words: herbicide, efficacy, phytotoxicity, hop, bean

¹ univ. dipl. inž. kmet., Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec: silvo.zveplan@ihps.si

² dr. agr. znan., prav tam: magda.rak-cizej@ihps.si

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam: gregor.leskosek@ihps.si

1 UVOD

Na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije v Žalcu (IHPS) smo v letu 2008 preizkušali vpliv izbranih herbicidov na rast in razvoj hmelja (*Humulus lupulus* L.) v prvoletnih nasadih. Za hmelj je sicer pri nas uradno registriran samo herbicid Reglone 200 SL. Vemo, da je v prvoletnih nasadih hmelja in v ukoreniščih potrebno ogromno ročnega dela za zatiranje plevelov. Na IHPS smo želeli dobiti informacije, kako delujejo in vplivajo na rastline hmelja in fižola nekateri pri nas že registrirani herbicidi, katere uporabljamo v poljedelstvu in vrtnarstvu.

2 MATERIAL IN METODE

V poskusu smo na osnovi lanskoletnega poskusa, znanja in izkušenj uporabili pet herbicidov, za katere menimo, da bi jih lahko ob razširitvi registracije uporabljali tudi v prvoletnih nasadih hmelja in v ukoreniščih. Mnogi hmeljarji v prvoletne nasade hmelja sadijo tudi fižol, zato smo v naš poskus poleg obravnavanj hmelj+herbicid vključili tudi obravnavanja hmelj+fižol+herbicid.

2.1 Rastlinski material

CS_A hmeljna certificirana sadika A

Podzemni del stebela mora biti zadebeljen-debelina mora biti vsaj 3 mm, imeti mora najmanj eno zadebeljeno korenino premera 3 mm, korenine in koreninice morajo prerasti zemeljsko grudo, nadzemni del rastline pri spomladanskih sadikah mora imeti vidne brste, pri jesenskih sadikah je lahko nadzemni del že v fazi odmiranja.

CS_B hmeljna certificirana sadika B

Je lahko dvovenčna ali enovenčna. Dvo venčna sadika mora imeti dva venca dobro razvitih brstov, ki so dolgi najmanj 10 mm, premer sadike mora biti najmanj 10 mm, zgornji del sadike mora biti gladko, poševno prirezan, 15 mm nad zgornjim vencem brstov, spodnji del sadike mora biti gladko, ravno prirezan, 15 mm pod spodnjim vencem brstov. Enovenčna sadika mora imeti en venec dobro razvitih brstov, ki so dolgi najmanj 10 mm, premer sadike mora biti najmanj 6 mm, zgornji del sadike mora biti gladko, poševno prirezan, 15 mm nad vencem brstov, spodnji del sadike mora biti gladko ravno prirezan, 60 mm pod vencem brstov.

2.2 Zasnova poskusa

V poskusu smo uporabili CS_A in CS_B v kombinaciji s fižolom in brez njega. Z obema vrstama sadik je bil bločni poljski poskus zasnovan v petih obravnavanjih in treh ponovitvah (EPPO stand. PP1, 2004). Sadike hmelja smo ročno posadili 28. aprila v strojno izkopane jarke na parceli SN 6, ki leži na obrečnih, srednje globokih rjavih tleh. Tla so srednje težka. Fižol smo med hmelj posadili 9. maja. Poskus je zajemal 250 CS_A in 250 CS_B, 5 herbicidov v različnih odmerkih in terminih uporabe.

2.3 Škropljenje

Pri vseh sadikah CS_A smo, glede na izkušnje iz leta 2007, opravili le postem aplikacijo, (sadike imajo zeleni del, ker jih posadimo iz lončka), 9. maja. Pri CS_B smo aplikacijo opravili pred vznikom hmelja prav tako 9. maja (preem – sadike še niso ozelenele, ker še nimajo nadzemnega dela). Razvojna faza CS_A je bila 12-14 po BBCH skali, pri CS_B 08 po BBCH. Sadike so bile v zelo dobrem zdravstvenem stanju in kondiciji. Pri CS_A, kjer so ob škropljenju bili nadzemni deli sadik hmelja izpostavljeni tretiranju s herbicidom (postem), smo uporabili

nižje odmerke kot pri CS_B, kjer so bile sadike še popolnoma v zemlji (preem) (Lešnik, 2007). Fižol je bil v času škropljenja pri vseh obravnavanjih še popolnoma v zemlji (preem).

Preglednica 1: Herbicidi, aktivne snovi, formulacije, odmerki, termini škropljenj
Table 1: Herbicides, active ingredients, formulations, dosis rate, application timing

St. obr.	Herbicidi	Aktivne snovi	Formulacija	Odmerki		Termin škropljenja
				g, mL a.s./ha	kg, L pripr./ha	
SADIKE						
0	KONTROLA					
1	Stomp 400 SC	pendimetalin 400	SC	1400	3,5	postem
2	Stomp 400 SC + Dual gold 960 EC	pendimetalin 400 g/L + S-metolaklor 960 g/L	SC + EC	1000 + 480	2,5 + 0,5	postem
3	Afalon + Dual gold 960 EC	linuron 450 g/L + S-metolaklor 960 g/L	SC + EC	675 + 480	1,5 + 0,5	postem
4	Lumax	mezotrion 37,5 g/L + S metolaklor 375 g/L + terbutilazin 125 g/L	SC	93,75 + 937,5 + 312,5	2,5	postem
5	Goal	oksifluorfen 240 g/L	EC	240	1,0	postem
= 18 parcel brez fižola in 18 parcel s fižolom						
SADIKE						
0	KONTROLA					
11	Stomp 400 SC	pendimetalin 400	SC	1600	4,0	preem
12	Stomp 400 SC + Dual gold 960 EC	pendimetalin 400 g/L + S-metolaklor 960 g/L	SC + EC	1200 + 960	3,0 + 1,0	preem
13	Afalon + Dual gold 960 EC	linuron 450 g/L + S-metolaklor 960 g/L	SC + EC	900 + 960	2,0 + 1,0	preem
14	Lumax	mezotrion 37,5 g/L + S metolaklor 375 g/L + terbutilazin 125 g/L	SC	131,25 + 1312,5 + 437,5	3,5	preem
15	Goal	oksifluorfen 240 g/L	EC	360	1,5	preem
= 18 parcel brez fižola in 18 parcel s fižolom						

Povprečna dnevna temperatura na dan škropljenja je bila 15,1 °C, založenost tal z vlago pod 50 %. Jugovzhodni veter je pihal z močjo 0-1 m/s. Količina prvih padavin, deset dni po škropljenju, je bila 8,8 L/m². Od škropljenja do konca maja je padlo 37,8 L/m², v juniju 228 L/m², v juliju 191 L/m², v avgustu 172 L/m² in v septembru le 21 L/m². Temperature so bile

ves mesec maj v poprečju višje za 2,6 °C od 40-letnega povprečja. V juniju smo imeli v prvi dekadi za 1,5 °C višje povprečne temperature, v drugi dekadi za 1,2 °C nižje in v tretji dekadi kar za 4,6 °C višje povprečne temperature od 40-letnega povprečja. Tudi ves mesec julij in avgust so bile nekoliko višje povprečne temperature od temperatur 40-letnega povprečja. V septembru smo v prvi dekadi izmerili za 3,4 °C višje povprečne temperature od 40-letnega povprečja. V drugi dekadi septembra smo izmerili za 2,6 °C in v tretji dekadi septembra kar za 3,4 °C nižje povprečne temperature od 40-letnega povprečja.

Poskus smo škropili z nahrbtno škropilnico na stisnjen zrak znamke Gloria s škropilno palico delovne širine 2 m s štirimi šobami XR Teejet 8002 VS in delovnim tlakom 3 bare. Poraba vode je bila 300 L/ha oziroma 0,42 L/14 m² veliko parcelo. V času škropljenja še ni bilo plevelov.

2.4 Ocenjevanje

Poskus smo prvič ocenjevali po štirih tednih in drugič po slabih dveh mesecih od škropljenja. Učinkovitost in fitotoksičnost smo ocenjevali z vizualno procentualno metodo (EPPO stand. PP1, 2006). V izračunani skupni oceni obravnavanja je zajeta učinkovitost herbicida na plevelne vrste (Šarić, 1978) in morebitna fitotoksičnost za hmelj in fižol. Skupne ocene so od 1 (nezadostno), 2 (zadostno), 3 (dobro), 4 (prav dobro) do 5 (odlično).

Dobljene podatke ocenjevanj smo statistično obdelali s pomočjo programa StatGraphics Plus 4,0.

Preglednica 2: Herbicidi, rastline, ocene obravnavanj

Table 2: Herbicides, plants, treatment assessments

Št. obr.	Herbicide / rastlina	Skupna ocena obravnavanja (treh ponovitev)
1	Stomp 400 SC / hmelj	4,55 ^{ab}
1	Stomp 400 SC / hmelj + fižol	
11	Stomp 400 SC / hmelj	4,00 ^{bc}
11	Stomp 400 SC / hmelj + fižol	
2	Stomp 400 SC + Dual gold 960 EC / hmelj	4,42 ^{ab}
2	Stomp 400 SC + Dual gold 960 EC / hmelj + fižol	
12	Stomp 400 SC + Dual gold 960 EC / hmelj	4,40 ^{ab}
12	Stomp 400 SC + Dual gold 960 EC / hmelj + fižol	
3	Afalon + Dual gold 960 EC / hmelj	4,60 ^a
3	Afalon + Dual gold 960 EC / hmelj + fižol	
13	Afalon + Dual gold 960 EC / hmelj	4,53 ^{ab}
13	Afalon + Dual gold 960 EC / hmelj + fižol	
4	Lumax / hmelj	4,34 ^{ab}
4	Lumax / hmelj + fižol	
14	Lumax / hmelj	3,54 ^c
14	Lumax / hmelj + fižol	
5	Goal / hmelj	3,77 ^c
5	Goal / hmelj + fižol	
15	Goal / hmelj	3,50 ^c
15	Goal / hmelj + fižol	

Skupna ocena obravnavanja: v oceni sta zajeti učinkovitost herbicida in fitotoksičnost herbicida za hmelj in fižol (ocena 1 nezadostno, ocena 5 odlično)

^{a, b, c} skupine z enako črko v indeksu znotraj stolpca (skupna ocena obravnavanja) glede na uporabljen herbicide se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (Duncanov test mnogoterih primerjav, $\alpha = 5\%$)

Common treatment assessment: herbicide efficacy and herbicide fitotoxicity for hop and bean are included in the assessment (1 insufficient, 5 excellent)

a, b, c. identical letter indicate no significant difference between group (common treatment assessment) with regard to the herbicide means ($P > 0.05$) on test of Duncan

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Preglednica 3: Vizualno ocenjevanje učinkovitosti (%), fitotoksičnosti (%) in skupna ocena obravnavanja (1-5)
Table 3: Visual assessment of herbicide efficacy (%), phytotoxicity (%) and common treatment assessment (1-5)

Latinsko ime plevela	Vizualna procentualna ocena učinkovitosti (%) in fitotoksičnosti (%)										
	Številka obravnavanja										
	1	2	3	4	5		1	1	1	1	1
<i>Amaranthus retroflexus</i>	83	88	89	93	96		87	90	94	97	97
<i>Chenopodium album</i>	94	94	98	100	93		97	97	98	100	94
<i>Cirsium arvense</i>	75	77	83	70	85		75	78	87	70	87
<i>Echinochloa crus - galli</i>	93	96	99	92	85		94	99	100	95	88
<i>Galinsoga parviflora</i>	90	92	98	99	92		92	95	100	100	95
<i>Sonchus arvensis</i>	85	93	95	95	93		88	94	97	97	95
Fitotoksičnost (%) pri	0	0	0	5	20		0	0	0	20	30
Fitotoksičnost (%) pri	0	0	0	50	10		0	0	0	65	20
Skupna ocena obravnav.	4,5	4,4	4,6	4,3	3,7		4,0	4,4	4,5	3,5	3,5

Ocena fitotoksičnosti: 0 do 100 %; 0 % nič fitotoksičnosti, 100 % fitotoksičnost-popolnoma uničena rastlina. Skupna ocena obravnavanja: v oceni sta zajeti učinkovitost herbicida in fitotoksičnost herbicida za hmelj in fižol (ocena 1 nezadostno, ocena 5 odlično)

Phytotoxicity assessment (%): from 0 to 100; 0 - no phytotoxicity; 100 - totally destroyed plants because of phytotoxicity. Common treatment assessment: herbicide efficacy and herbicide fitotoxicity for hop and bean are included in the assessment (1 insufficient, 5 excellent)

Stomp 400 SC

V vseh obravnavanjih se je izkazal kot zelo dober herbicid, ki ni imel nobenega fitotoksičnega vpliva na hmelj ali fižol. Njegova učinkovitost na plevela je bila prav dobra, skupna ocena je bila 4,55 pri obravnavanjih s CS_A in 4,00 pri obravnavanjih s CS_B.

Stomp 400 SC + Dual gold 960 EC

V obeh obravnavanjih je bil herbicid Stomp 400 SC v nižjem odmerku kombiniran s herbicidom Dual gold 960 EC. Dobili smo prav dobre rezultate učinkovitosti in nismo opazili nobene fitotoksičnosti pri hmelju ali fižolu. Skupna ocena je bila 4,42 pri obravnavanjih s CS_A in 4,40 pri obravnavanjih s CS_B.

Afalon + Dual gold 960 EC

Ta kombinacija se je izkazala pri vseh obravnavanjih kot najboljša. Dobili smo odlične rezultate učinkovitosti, hkrati pa nismo opazili fitotoksičnosti pri hmelju ali fižolu. Skupna ocena je bila 4,60 pri obravnavanjih s CS_A in 4,53 pri obravnavanjih s CS_B.

Lumax

Ta herbicid se je v našem poskusu izkazal kot manj primeren za hmelj in pričakovano neprimeren za fižol. Ocene učinkovitosti so bile odlične, za večino plevelov so bile nad 92 %. Ocenili pa smo 5 % fitotoksičnost pri hmelju in kar 50 % fitotoksičnost pri fižolu v

obravnavaanjih s CS_A. Pri obravnavaanjih s CS_B smo ocenili 20 % fitotoksičnost pri hmelju in kar 65 % fitotoksičnost pri fižolu. Fitotoksičnost herbicida se je pri hmelju odražala v začetni počasnejši rasti - nižji hmelj. Kasneje v rastni dobi je hmelj višino nadoknadil in bil ob koncu rastne dobe normalno visok. Fitotoksičnost pri fižolu se je odražala v obliki poškodb spodnjih listov, ki so bili belo-zeleno lisasti in v počasnejši rasti v obdobju štirih tednov po škropljenju. Tudi fižol si je kasneje opomogel, a kljub temu do konca rastne dobe ni dosegel višine fižola na kontrolni parceli. Skupna ocena je bila 4,34 pri obravnavaanjih s CS_A in 3,54 pri obravnavaanjih s CS_B.

Goal

Pri obravnavaanjih s herbicidom Goal smo ocenili prav dobro učinkovitost na večino opazovanih plevelov. Ocenili smo 20 % fitotoksičnost pri hmelju in 10 % fitotoksičnost pri fižolu v obravnavaanjih s CS_A. Pri obravnavaanjih s CS_B smo ocenili 30 % fitotoksičnost pri hmelju in 20 % fitotoksičnost pri fižolu. Fitotoksičnost herbicida se je pri hmelju in fižolu odražala v močnejših ožigih spodnjih listov, ki so odpadli in v kratkotrajni močnejši zaustavitvi rasti hmelja in fižola. Kasneje sta hmelj in fižol veliko nadoknadila, a kljub temu do koncu rastne dobe nista dosegla višine hmelja in fižola na kontrolni parceli. Skupna ocena je bila 3,77 pri obravnavaanjih s CS_A in 3,50 pri obravnavaanjih s CS_B.

4 SKLEPI

Poskus je bil opravljen z namenom pridobivanja informacij glede učinkovitosti v hmelju pri nas že registriranih herbicidov v drugih kulturah in možnostih uporabe, ob razširitvi registracije, v prvoletnih nasadih hmelja in v ukoreniščih.

Aktivna snov (pendimetalin) proučevanega herbicida Stomp 400 SC je po našem mnenju in mnenju snovalcev Dobre prakse varstva rastlin (EPPO stand. PP2, 2005) ustrezna za uporabo v hmeljarstvu v prvem letu zasaditve hmeljišč, če hmelja ne bomo obirali in v ukoreniščih.

Herbicidni kombinaciji Stomp 400 SC + Dual gold 960 EC in Afalon + Dual gold 960 EC sta bili ocenjeni z višjo skupno oceno obravnavaanja kot herbicid Stomp 400 SC. Obe herbicidni kombinaciji pa imata slabše ekotoksikološke karakteristike in določene omejitve pri uporabi. Herbicid Dual gold 960 EC ima omejitve uporabe pred vznikom na vodovarstvenih območjih. Herbicid Afalon ima omejitve glede uporabe na lahkah tleh, tleh z več kot 6 % humusa, ob močnejših in daljših padavinah lahko pride do spiranja herbicida v območje korenin in posledično do fitotoksičnosti.

Lumax in Goal sta se izkazala kot neprimerna herbicida v prvoletnih nasadih hmelja in v ukoreniščih, saj smo pri obeh ocenili preveliko fitotoksičnost za hmelj in fižol.

V decembru 2008 smo preko Kmetijsko gozdarske zbornice Slovenije oddali vlogo na Fitosanitarno upravo Republike Slovenije za razširitev uporabe herbicida Stomp 400 SC v prvoletnih nasadih hmelja, če hmelja ne bomo obirali in v ukoreniščih.

5 LITERATURA

- Červenka, M. in sod. 1988. Rastlinski svet Evrope, Ljubljana, Mladinska knjiga Ljubljana: 102-103, 110-111, 146- 147, 238-239, 324-325
- EPPO Standards PP1, 2004. 2nd Edition, Efficacy Evaluation of Herbicide & Plant Growth Regulators: 113-116
- EPPO Standards PP1, 2006. Efficacy Evaluation of Plant Protection Product Products: 1-25
- EPPO Standards PP2, 2005, Good Plant Protection Practice: 45
- Lešnik, M. 2007. Tehnika in ekologija zatiranja plevelov. Ljubljana, Kmečki glas: 186-223
- Šarić, T. 1978. Atlas korova. Sarajevo, Svetlost OOUR Zavod za udžbenike: 8-9, 30-31, 34-35, 40-41, 70-71, 186-187

PREUČEVANJE UČINKOVITOSTI HERBICIDOV ZA ZATIRANJE PELINOLISTNE AMBROZIJE (*Ambrosia artemisiifolia* L.) V SLOVENIJI

Robert LESKOŠEK¹, Andrej SIMONČIČ², Mario LEŠNIK³, Stanislav VAJS⁴, Silvo
ŽVEPLAN⁵

^{1,2}Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

^{3,4}Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Maribor

⁵Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Žalec

IZVLEČEK

Pelinolistna ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia* L.), kot invazivna enoletna rastlinska vrsta, predstavlja v Evropi zaradi povzročanja inhalacijskih alergij eno najpomembnejših plevelnih vrst. V zadnjih letih se močno širi tudi v Sloveniji, kjer se iz nekmetijskih zemljišč širi na njive z različnimi posevki kot so koruza, krompir, sladkorna in krmna pesa, vrtnine, krmne rastline ter v manjši meri v žita. Z namenom preprečevanja širjenja ambrozije smo v letih med 2007 in 2008 v poljskih poskusih preučevali učinkovitost herbicidov, ki jih v Sloveniji uporabljamo za zatiranje plevelov v poljščinah, trajnih nasadih, strniščih ter na nekmetijskih zemljiščih. Na podlagi rezultatov je mogoče ugotoviti, da imamo v Sloveniji dovolj učinkovitih herbicidov, s katerimi lahko ob upoštevanju ter uporabi ostalih posrednih ter neposrednih nekemičnih ukrepov kot so ustrezen kolobar, obdelava tal ter oskrba gojenih rastlin, učinkovito zatiramo ter preprečujemo širjenje te plevelne vrste.

Ključne besede: pelinolistna ambrozija, invazivni plevel, zatiranje plevelov, učinkovitost herbicidov

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF HERBICIDE EFFICACY ON COMMON RAGWEED (*Ambrosia artemisiifolia* L.) IN SLOVENIA

Due to causing inhalation allergies, the common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.), an invasive annual plant, is one of the most important weed species in Europe. It has been spreading very intensively in the last few years, also in Slovenia, from non-crop land to different crops such as maize, potatoes, sugar and fodder beet, vegetables, fodder plants and cereals. In order to investigate the efficacy of herbicides registered to control the weeds in different crops and non-crop land in Slovenia on this weed species, field trials were carried out from 2007 to 2008 in different crops and non-crop land. From the results it could be seen that in Slovenia there is a sufficient number of effective herbicides to control the common ragweed and to prevent its spreading. Especially, if all other recommended direct and indirect non-chemical techniques of field-crop production such as proper crop rotation, tillage system, and cultivation of plants causing decrease of the number of weed seeds are used.

Key words: common ragweed, invasive weed, weed control, herbicide efficacy

¹ univ. dipl. inž. agr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

² doc. dr., prav tam

³ prof. dr., Pivola 10, SI-2311 Hoče

⁴ asist., univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁵ univ. dipl. inž. agr., Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec

1 UVOD

Ambrosia artemisiifolia L. (pelinolistna ambrozija, navadna žvrklja) je enoletna rastlina, ki izvira iz območja Severne Amerike. V Evropi naj bi bila znana že v 18. stol., prvi herbarijski primerki pa izvirajo iz leta 1853 iz Nemčije in Francije (Lavoie *et al.*, 2007). Prva omemba pri nas je iz leta 1953, ko jo je v Leskovcu pri Krškem opazil V. Strgar. V zahodni Evropi se je začela močno širiti po 1. svet. vojni, na Balkanu pa po 2. svetovni vojni (Bohren, 2005). Najverjetnejši vektorji vnosa so bili okužena semena detelj in sončnic, pozneje pa ptičje hrane (Dahl *et al.*, 1999). Njeno nadaljnje širjenje pa pripisujemo predvsem antropogenemu vplivu človeka: promet, gradbišča, opuščanje človekovih aktivnosti na različnih zemljiščih (Vitalos in Karrer, 2008). Ambrozija je problematična predvsem zaradi alergenosti peloda, ki na letni ravni v Nemčiji povzroči za približno 32 milijone evrov stroškov, na področju ZDA pa kar 3 milijarde dolarjev (Brandes in Nietzsche, 2006; Tamarcaz, 2005). Na območju Madžarske in državah Balkana je postala plevelna vrsta, ki povzroča velike izgube pridelkov v koruzi, žitih, sončnicah in ostalih gojenih rastlinah (Beres, 2003). Zdaj je ambrozija razširjena na območju večjega dela Evrope še posebej pa v Franciji, Italiji, Švici in na Madžarskem (Bohren 2006). Tudi Slovenija ni izjema, saj jo najdemo povsod v nižinskih predelih, največ težav pa povzroča na nekmetijskih zemljiščih ob železnicah, cestah in na zapuščenih zemljiščih.

Namen raziskave je bil ugotoviti, kateri herbicidi registrirani v Sloveniji, bi bili ustrezni za učinkoviti zatiranje pelinolistne ambrozije v koruzi, na strniščih in na nekmetijskih površinah.

2 MATERIALI IN METODEDE

V letu 2007 smo izvedli 2 poskusa v koruzi na dveh različnih lokacijah v Sloveniji. V prvem primeru smo uporabili 14 in v drugem primeru 15 herbicidov in kombinacij le-teh. Uporabili smo vse najpomembnejše aktivne snovi, ki so registrirane v Sloveniji za zatiranje plevelov v koruzi v času pred vznikom koruze in plevela ter po njem. V istem letu smo izvedli tudi poskus na nekmetijskem zemljišču (ob železnici), pri katerem smo uporabili 13 herbicidov.

V letu 2008 smo ponovili 2 poskusa v koruzi na dveh lokacijah v Sloveniji (13 in 14 herbicidov) in poskus na nekmetijskem zemljišču (ob železnici, 13 herbicidov), dodatno pa smo izvedli še poskus na strnišču s 15 herbicidi.

Poskusi v koruzi in na strnišču so bili zasnovani v naključnih blokih s 4 ponovitvami, medtem ko so bila obravnavanja na nekmetijskem zemljišču (ob železnici), zaradi same širine brežine, vse 4 ponovitve postavljene naključno v eni vrsti. Na 3 lokacijah, kjer ambrozije ni bilo dovolj, smo seme le-te ročno dosejvali v času predsetvene obdelave. Herbicide smo aplicirali z nahrbtno škropilnico na stisnjen zrak BASF Gloria, s 6 šobami XR Teejet VS in 3 bari pritiska. Poraba vode je odvisno od poskusa znašala od 200-400 L/ha. Ocenjevali smo redno po vizualno-procentualni EWRS metodi 7-10 dni po aplikaciji pripravkov. Končno oceno delovanja pripravkov pa smo podali 35-40 dni po aplikaciji. Rezultate učinkovitosti herbicidov, ki niso bili vključeni v naše poskuse, pa smo pridobili iz literature (Bohren, 2008b).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V preglednicah 1, 2 in 3 so prikazani rezultati učinkovitosti herbicidov v poljskih poskusih v koruzi ter na nekmetijskih zemljiščih in na strnišču v letih 2007 in 2008.

Preglednica 1: Rezultati učinkovitosti herbicidov v poljskih poskusih pri zatiranju pelinolistne ambrozije v letih 2007 in 2008 v koruzi v Sloveniji

Št.	Kemični pripravki	Aktivne snovi	Form.	kg, L priprav	Učinkovitost pripravka v % glede na razvojni stadij ambrozije		
					Pred vznikom	1-2 lista	Več kot 4 listi
1	Primextra TZ gold 500 SC	S-metolaklor 312,5 g/L + terbutilazin 187,5 g/L	SC	4,5	99	96	85
2	Lumax	mezotrion 37,5 g/L+ S-MOC 375 g/L + terbutilazin 125 g/L	SC	4,0	96	98	80
3	Frontier X2	dimetenamid-P 720 g/L	EC	1,4	<10	<10	<10
4	Dual gold 960 EC	S-metolaklor 960 g/L	EC	1,5	40	20	<10
5	Stomp 400 SC	pendimetalin 400 g/L	SC	4,0	40	20	<10
6	Bromotril 225 EC	bromoksinil oktanoat 327,5 g/L	EC	1,5	<10	95	90
7	Callisto 480 SC	mezotrion 480 g/L	SC	0,3	85	90	92
8	Terano WG 62,5	flufenacet 600 g/L + metosulam 2,5 g/L	WG	1,0	60	70	50
9	Cambio	bentazon 320 g/L + dikamba 90 g/L	SL	2-3	/	70	60
10	Maister OD	foramsulfuron 30 g/L + iodosulfuron 10 g/L	OD	1,5	/	90	88
11	Motivell	nikosulfuron 40 g/L	SC	6	/	20	10
12	Banvel 480 S	dikamba 480 g/L	SL	0,5	/	99	97
13	Tarot 25 WG	rimsulfuron 250 g/L	WG	0,04	/	50	20
14	Peak 75 WG	prosulfuron 750 g/L	WG	0,025	/	50	50
15	Harmony 75 WG	tifensulfuron-metil 750 g/L	WG	0,015	/	75	60
16	Herbocid	2,4 D- DMA	SL	1-1,5	/	65	45
17	Equip	foramsulfuron 22,5 g/L	OD	2,5	93	90	85
18	Casper 550 WG	prosulfuron 50 g/kg + dikamba 500 g/kg	WG	0,350	70	90	83
19	Lontrell 100	klopivalid 100 g/l	SL	0,6-1	/	90	80
20	Merlin	izoksaflutol 750g/kg	WG	0,013	70	60	40
21	Mustang 306 SE	2,4 D 2-EHE 45,24 g/L + florasulam 6,25 g/L	SE	0,6	/	90	80
22	Racer 25- EC	flurokloridon 250g/L	EC	3,0	50	<30	<10
23	Starane 2	fluroksipir 288 g/L	EC	0,8	/	<10	<10

24	Successor	petoksamid 600g/L	SC	2,0	70	40	<30
25	Tomigan 200 EC	fluroksipir – 1 MHE 288 g/L	EC	0,8	<10	<10	<10
26	Activus 40 WG	pendimetalin 400 g/L	WG	4,0	50	30	/

Iz preglednice 1 je razvidno, da lahko pelinolistno ambrozijo učinkovito zatiramo z večino pripravkov za zatiranje širokolistnih plevelov, medtem ko pripravki za zatiranje ozkolistnih plevelov po pričakovanju niso bili dovolj učinkoviti. Najboljše rezultate smo dosegli z uporabo naslednjih aktivnih snovi in njihovih kombinacij: S- metaloklor in terbutilazin (Primextra TZ Gold 500 SC), mezotrion, S-MOC-a in terbutilazin (Lumax), ter dikamba (Banvel 480 S). Zadovoljive rezultate je pokazal pripravek na osnovi bromoksinil oktanoata (Bromotril 225 EC). Z uporabo aktivnih snovi in kombinacij 2,4 D 2-EHE in florasulama (Mustang 306 E), klopiralida (Lontrell 100), foramsulfurona (Equip), foramsulfurona in iodisulfurona (Maister OD), mezotriona (Callisto 480 SC) smo dosegli učinkovitosti okoli 90 %, kar pa pri zatiranju pelinolistne ambrozije ni dovolj, če upoštevamo dejstvo, da je potrebno zaradi zdravstvenega vidika preprečiti tudi minimalno cvetenje in s tem sproščanje peloda, kot tudi poznejšo tvorbo semena (Bohren *et al.*, 2008a).

Preglednica 2: Rezultati učinkovitosti herbicidov v poljskih poskusih pri zatiranju pelinolistne ambrozije v letih

Št.	Kemični pripravki	Aktivne snovi	Formulacija	Odmerek kg, L	Povprečna učinkovitost pripravka v % glede na razvojni stadij ambrozije	
-----	-------------------	---------------	-------------	---------------	---	--

2007 in 2008 na nekmetijskem zemljišču (ob železnici) v Sloveniji

					1-2 lista	Nad 4 listi
1	Banvel 480 S	dikamba-sol 480 g/L	SL	1,5	85	98
2	Boom efekt	glifosat izopropilamino soli 480 g/L	SL	5,0	100	100
3	Dominator Ultra 360 SL	glifosat v izopropilamino soli 486 g/L	SI	5,0	100	100
4	Roundup	glifosat v izopropilamino soli 480 g/L	SI	2,25	100	100
5	Roundup	glifosat v izopropilamino soli 480 g/L	SI	3,0	100	100
6	Roundup energy	glifosat v obliki kalijeve soli 551 g/L	SL	3,0	100	100
7	Roundup ultra	glifosat v izopropilamino soli 480 g/L	SI	2,25	100	100
8	Roundup ultra	glifosat v izopropilamino soli 480 g/L	SI	3,0	100	100
9	Touch down system 4	glifosat v obliki amonijeve soli 360 g/L	SL	4	100	100

Preglednica 3: Rezultati učinkovitosti herbicidov v poljskih poskusih pri zatiranju pelinolistne ambrozije v letih

Št. Št.	Kemični Kemični pripravki	Aktivne Aktivne snovi	Form.	Odmerek Odmerek kg, L pripr./ha	Povprečna Povprečna učinkovitost pripravka v % glede na razvojni stadij ambrozije	
					1-2 lista	Več kot 4 listi
1	Basta 15	glufosinat amonijeva sol 150 g/L	SL	5,0	100	100
2	Boom efekt	glifosat izopropilamino soli 480 g/L	SL	5,0	100	100
3	Dominator Ultra 360 SL	glifosat v izopropilamino soli 486 g/L	SL	5,0	100	100

2007 in 2008 na strnišču v Sloveniji

4	Roundup	glifosat v izopropilamino soli 480 g/L	SL	2,25	100	100
5	Roundup	glifosat v izopropilamino soli 480 g/L	SL	3,0	100	100
6	Roundup ultra	glifosat v izopropilamino soli 480 g/L	SL	2,25	100	100
7	Roundup ultra	glifosat v izopropilamino soli 480 g/L	SL	3,0	100	100
8	Roundup energy	glifosat v obliki kalijeve soli 551 g/L	SL	3,0	100	100
9	Touch down system 4	glifosat v obliki amonijeve soli 360 g/L	SL	4,0	100	100

S pripravkom na osnovi dikambe (Banvel 480 S) smo v fazi razvoja 1-2 lista dosegli 85 % učinkovitost, v fazi 4 listov in več pa povprečno 98 % učinkovitost, kar pri zatiranju pelinolistne ambrozije zaradi že omenjenih vzrokov ni dovolj. Vsi ostali uporabljeni pripravki na osnovi glifosata so dosegli želeno 100 % učinkovitost. Na strnišču lahko s temi pripravki uspešno zatiramo tudi druge trdovratne enoletne in večletne plevelne vrste.

4 SKLEPI

Iz rezultatov predstavljenih poskusov lahko ugotovimo, da je mogoče pelinolistno ambrozijo uspešno zatirati tako v koruzi, na strnišču in na nekmetijskih zemljiščih s pripravki, ki so dostopni na slovenskem tržišču.

V koruzi je dobro delovanje na pelinolistno ambrozijo pokazala večina herbicidov za zatiranje širokolistnih plevelov, slabše oziroma nezadovoljivo pa so po pričakovanju delovali

pripravki za zatiranje ozkolistnih plevelov. Večina selektivnih pripravkov v koruzi je veliko bolje delovala v zgodnji razvojni fazi, zato je čas aplikacije izredno pomemben za dobro učinkovitost.

V žitih pelinolistna ambrozija ni konkurenčna, vendar pa lahko ta plevelna vrsta v primeru slabše tehnike pridelovanja žit, predvsem manjše gostote, v žitu kali in v fazi do 8 listov pričaka žetev žit. Takšno pelinolistno ambrozijo ter vso ostalo, ki kali pozneje na strnišču, lahko uspešno zatremo s pripravki na osnovi glifosata skupaj z drugimi večletnimi pleveli, vendar pred njenim cvetenjem in semenitvijo.

Na nekmetijskih zemljiščih dobre rezultate dosežemo z neselektivnimi pripravki na osnovi glifosata v različnih oblikah soli, kjer je prav tako pomembno, da pripravke uporabimo v času pred cvetenjem pelinolistne ambrozije in sproščanjem peloda, hkrati pa moramo biti pozorni na morebiten naknaden vznik in po potrebi opraviti ponovno tretiranje z namenom preprečitve širjenja te s kmetijskega kot tudi zdravstvenega vidika neželene plevelne vrste. Že pred samim kemičnim zatiranjem pa moramo s primernimi ukrepi kot so kolobar, tehnika pridelovanja in oskrba rastlin ter košnja oziroma mulčenje javnih zemljišč, poskrbeti, da pelinolistna ambrozija na kmetijskih in nekmetijskih zemljiščih ne pridobi konkurenčne prednosti, ki bi ji omogočila nadaljnjo širitev.

5 LITERATURA

- Dahl A., Strandhede SO., Wihl J.A. 1999. Ragweed – an allergic risk in Sweden? *Aerobiologia*;15: 293–7.
- Lavoie C., Jodoin Y., Goursaud D. 2007. How did common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) spread in Québec? A historical analysis using herbarium records. *Journal of biogeography* 34, 1751-1761.
- Beres, I. 2003. Distribution, importance and biology of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.). *Novenyvedelem*, 39, 7: 293-302.
- Bohren C., Delabays N., Mermillod G., Keimer C., Kündig C. 2005. Common ragweed in Switzerland: distribution and control. *Agrarforschung* 12, 02: 71-78
- Bohren, C. 2006. *Ambrosia artemisiifolia* L. in Switzerland: concerted action to prevent further spreading. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 58,11:304–308.
- Bohren C., Delabays N., Mermillod G., Baker A., Vertenten J. 2008 a. Common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.): breaking the plant life cycle in order to exhaust the seed bank. *Agrarforschung* 15, 07: 308-313.
- Bohren C., Delabays N., Mermillod G. 2008 b. Feldversuche mit Herbiziden. *AgrarForschung* 15, 5: 230-235.
- Brandes, D., Nitzsche J. 2006. Biology, introduction, dispersal, and distribution of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) with special regard to Germany *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.*, 58, 11: 286-291
- Taramarcas P., Lambelet C., Clot B., Keimer C., Hauser C. 2005. Ragweed (*Ambrosia*) progression and its health risks: will Switzerland resist this invasion? *Swiss Medical Weekly* 135: 538–548.
- Vitalos M., Karrer G. 2008. Distribution of *Ambrosia artemisiifolia* L. – Is birdseed a relevant vector? *Journal of Plant Diseases and Protection, Spec. issue* 21: 345-348.

REZULTATI PREIZKUŠANJA HERBICIDOV PROTI PLEVELOM V SOJI

Boštjan MATKO¹, Jože MIKLAVC², Miro MEŠL³, Mario LEŠNIK⁴, Stanislav VAJS⁵

^{1,2,3}KGZS – Kmetijsko gozdarski zavod Maribor
^{4,5}Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Maribor

IZVLEČEK

V letu 2007 smo v enoletnem poljskem poskusu preizkušali delovanje herbicidov proti plevelom v navadni soji (*Glycine max* (L.) MERR.). V poskusu je bilo uporabljenih devet različnih herbicidov v različnih kombinacijah. Uporabljeni so bili Stomp 330 EC (pendimetalin), Dual Gold 960 EC (S-metolaklor), Sencor WG 70 (metribuzin), Afalon (linuron), Harmony 75 WG (tifensulfuron-metil), Focus ultra (cikloksidim), Basagran 600 (bentazon), Plateen WG 41,5 (metribuzin + flufenacet) in Fusilade forte (fluazifop-p-butil). Pokrovnost plevelov v kontroli – neškropljeno je znašala 94,5%, v najvišjem deležu pa je bil, na neškropljenih poskusnih parcelicah, zastopan plevel navadna kostreba – *Echinochloa crus-galli* (90,0%), ostali pleveli pa so bili zastopani v 1 – 4% deležu. Najvišjo učinkovitost je pokazala kombinacija herbicidov Basagran 600 + Dual Gold 960 EC (96,5%), veliko učinkovitost pa sta še tudi pokazali kombinaciji Plateen WG 41,5 + Basagran 600 (93,9 %) in Sencor + Dual Gold 960 EC (93,0%). Na nobeni od poskusnih parcelic ni bilo mogoče opaziti fitotoksičnosti.

Ključne besede: herbicid, navadna soja, plevel

ABSTRACT

RESULTS OF HERBICIDE TESTING AGAINST WEEDS IN SOYA BEAN

In year 2007, we are in the one-year experiment testing the efficiency of herbicides against weeds in the soya bean (*Glycine max* (L.) Merr.). In the experiment has been used nine different herbicides in various combinations. The herbicides were Stomp 330 EC (pendimethalin), Dual Gold 960 EC (S-metolachlor), Sencor WG 70 (metribuzin), Afalon (linuron), Harmony 75 WG (thifensulfuron-methyl), Ultra Focus (cikloksidim) Basagran 600 (bentazone) Plateen WG 41.5 (metribuzin + flufenacet) and Fusilade forte (fluazifop-p-butyl). Coverage of weeds in control – non treatment was 94.5%, the highest proportion on the non-treatment experimental plots, was represented with weed Barnyardgrass – *Echinochloa crus-galli* (90.0%), other weeds were represented in the 1 - 4% share. The maximum efficiency has shown a combination of herbicides Basagran 600 + Dual Gold 960 EC (96.5%), also high efficiency has shown a combination of Plateen WG 41.5 + Basagran 600 (93.9%) and Sencor + Dual Gold 960 EC (93.0%). On any trial plot has not been observed phytotoxicity.

Key words: herbicide, soya bean, weed

¹ univ. dipl. inž. agr., Vinarska 14, SI-2000 Maribor

² mag. agr. znan., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ izr. prof. dr., Pivola 10, SI-2311 Hoče

⁵ asist., univ. dipl. inž. agr., prav tam

1 UVOD

Soja je v svetovnem merilu ena najpomembnejših poljščin (največ se je prideluje v ZDA, Braziliji, Argentini, Kitajski, Indiji, Rusiji, Italiji, Nigeriji,...), pri nas pa je pridelava le v manjšem obsegu. Za rastline soje je značilna slaba tekmovalna sposobnost proti plevelom, zato so za zatiranje plevelov v soji razvili preko 20 različnih herbicidov, od katerih pa večina na našem trgu ni dostopna.

V Sloveniji smo imeli v letu 2008 za uporabo v soji v integrirani pridelavi poljščin 11 dovoljenih oz. registriranih herbicidov – 6 pred vznikom soje in plevelov za zatiranje ozko- in širokolistnih plevelov, 1 po vzniku soje in plevelov za zatiranje širokolistnih plevelov ter 4 po vzniku soje in plevelov za zatiranje ozkolistnih plevelov (Tehnološka navodila za integrirano pridelavo poljščin: leto 2008). V letu 2009 pa imamo registriranih oz. dovoljenih herbicidov za uporabo v soji v integrirani pridelavi poljščin le še 8 herbicidov – 4 pred vznikom soje in plevelov za zatiranje ozko- in širokolistnih plevelov, 1 po vzniku soje in plevelov za zatiranje širokolistnih plevelov ter 3 po vzniku soje in plevelov za zatiranje ozkolistnih plevelov (Tehnološka navodila za integrirano pridelavo poljščin: leto 2009).

Namen tega poskusa je bil ugotoviti kateri herbicidi, dostopni na trgu v Sloveniji, bi bili ustrezni za uporabo v soji ter pridobiti podatke o učinkovitosti delovanja herbicidov na zastopane plevelne vrste v soji. S poskusom pa smo prav tako hoteli pridobiti podatke o morebitni fitotoksičnosti uporabljenih herbicidov na rastlinah soje.

2 MATERIAL IN METODE

V letu 2007 smo na lokaciji Pragersko izvajali biotično preizkušanje herbicidov proti plevelom v navadni soji (sorta 'amphor').

Preglednica 1: Splošni podatki o preizkušanju herbicidov proti plevelom v navadni soji
Table 1: General information about the testing of herbicides against weeds in soyabean

Kraj in mesto: Pragersko	Izvajalec: KGZS – Zavod Maribor	Država: Slovenija
	Vodja poskusa: mag. Jože Miklavc	Leto: 2007
Predmet opazovanja: Pleveli v soji		
Spremljajoča opazovanja: Fitotoksičnost		
Ocenjevanje: Vizualno ocenjevanje učinkovitosti po procentualni metodi in ocenjevanje morebitne fitotoksičnosti herbicidov.		
Kultura: Soja	Sorta: Amphor	Latinsko ime: <i>Glycine max</i>
Velikost njive: 3 ha	Velikost poskusa: 9 ar – ov	Zasnova poskusa: Bločni poskus
Velikost parcel: 25 m ²	Število ponovitev: 4	

Površina posamezne ponovitve je bila 25 m², posameznega postopka (variante) en ar, površina celotnega poskusa pa je bila devet arov. Poskus je bil postavljen kot bločni poskus v štirih ponovitvah.

Soja je bila posejana 25. aprila 2007 s pnevmatsko sejalnico. V poskusu smo opravili dve škropljenji z nahrbtno škropilnico na stisnjen zrak Gloria BASF, porabili pa smo 350 litrov škropilne brozge na hektar.

Prvo škropljenje smo opravili 30. aprila in sicer pri postopkih: 1 (Stomp 330 E + Dual Gold 960 EC), 2 (Sencor + Dual Gold 960 EC), 3 (Afalon + Dual Gold 960 EC), 5 (Dual Gold 960 EC), 6 (Dual Gold 960 EC), 7 (Plateen WG 41,5) in 8 (Fusilade forte), pred vznikom soje. Drugo škropljenje pa smo opravili 21. maja pri postopkih 4 (Harmony 75 WG + Focus ultra), 5 (Harmony 75 WG), 6 (Basagran 600), 7 (Basagran 600) in 8 (Harmony 75 WG), ko je imela soja razvita dva prava lista.

Preglednica 2: Podatki o izvajanju škropljenj
Table 2: Dates of application and spraying data

	1. škropljenje	2. škropljenje
Številka obravnavanj	1, 2, 3, 5, 6, 7, 8	4, 5, 6, 7, 8
Datum škropljenja in čas	30. 4. 2007 8 ⁰⁰ – 12 ⁰⁰	21. 5. 2007 8 ⁰⁰ – 12 ⁰⁰
Stadij razvoja rastline	pred vznikom	BBCH 12 (2 prava lista)
Temperatura	13,7 °C	19,6 °C
Količina prvih padavin	33 mm	12,6 mm
Čas do prvih padavin	4 dni	1 dan
Količina škropilne brozge	350 L/ha	350 L/ha
Vrsta in tip škropilnice	BASF – Gloria nahrbtna škropilnica na stisnjen zrak	BASF – Gloria nahrbtna škropilnica na stisnjen zrak
Vrsta in tip šobe	FE 80/0.8/3	FE 80/0.8/3
Tlak	3,5 bar	3,5 bar

Preglednica 3: V poskusu uporabljeni pripravki, odmerki in datumi škropljenj
Table 3: Product and concentration, date of application

Št. obr.	Kemični pripravki	Aktivne snovi	Formul.	Odmerki		Datum škropljenja
				g, ml a. s./ha	kg, l pripr. /ha	
1.	Stomp 330 E	pendimetalin 400 g/l	SC	1600,0	4,0	30. 4. 2007
	Dual Gold 960 EC	alfa-metaloklor 960 g/l	EC	960,0	1,0	
2.	Sencor	metribuzin 700 g/kg	WP	700	1,0	30. 4. 2007
	Dual Gold 960 EC	alfa-metaloklor 960 g/l	EC	1200,0	1,25	
3.	Afalon	linuron 480g/l	SC	1200,0	2,5	30. 4. 2007
	Dual Gold 960 EC	alfa-metaloklor 960 g/l	EC	1200,0	1,25	
4.	Harmony 75 WG	tifensulfuron 750 g/kg	WG	3,75	5,0 g/ha	21. 5. 2007
	Focus ultra	cikloksidim 100 g/l	EC	150	1,5	
5.	Harmony 75 WG	tifensulfuron 750 g/kg	WG	6,0	8,0 g/ha	21. 5. 2007
	Dual Gold 960 EC	alfa-metaloklor 960 g/l	EC	1200,0	1,25	30. 4. 2007
6.	Basagran 600	bentazon 600 g/l	SL	1800,0	3,0	21. 5. 2007
	Dual Gold 960 EC	alfa-metaloklor 960 g/l	EC	1200,0	1,25	30. 4. 2007
7.	Plateen WG 41,5	metribuzin 175 g/kg, flufenacet 240 g/kg	WG	437,5 600,0	2,5	30. 4. 2007
	Basagran 600	bentazon 600 g/l	SL	1800,0	3,0	21. 5. 2007
8.	Fusilade forte	fluazifop-p-butil 150 g/l	EC	225	1,5	30. 4. 2007
	Harmony 75 WG	tifensulfuron 750 g/kg	WG	3,75	5,0 g/ha	21. 5. 2007
9.	Kontrola	/	/	/	/	/

V poskusu je bilo uporabljenih devet različnih herbicidov v različnih kombinacijah. Uporabljeni so bili Stomp 330 EC (pendimetalin), Dual Gold 960 EC (S-metolaklor), Sencor WG 70 (metribuzin), Afalon (linuron), Harmony 75 WG (tifensulfuron-metil), Focus ultra (cikloksidim), Basagran 600 (bentazon), Plateen WG 41,5 (metribuzin + flufenacet) in Fusilade forte (fluazifop-p-butil).

Rezultate delovanja posameznih kombinacij herbicidov oz. postopkov smo pridobili z vizualnim ocenjevanjem, ki smo ga izvedli dne 12. junija 2007 oz. 22 dni po drugem škropljenju. Pred samim ocenjevanjem smo ugotovili sestavo plevelne združbe na kontrolnih – neškropljenih parcelicah (postopek 9) in zapisali posamezne zastopane plevele na seznam. Nato smo za vsak plevel s seznama na vsaki parcelici (ponovitvi) vizualno ocenili učinkovitost po procentualni metodi (EWRS sistem vizualnega ocenjevanja od 0 do 100%). Ocenili smo tudi morebitno fitotoksičnost herbicidov na rastlinah soje oz. stopnjo poškodovanosti tkiv rastlin soje od herbicida (EWRS sistem vizualnega ocenjevanja od 0 do 10).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Pokrovnost plevelov v kontroli – neškropljeno je znašala 94,5%. V najvišjem deležu je bil, na neškropljenih poskusnih parcelicah, zastopan plevel navadna kostreba – *Echinochloa crus-galli* (90,0%), ostali pleveli pa v nižjih deležih: trodelni mrkač – *Bidens tripartitus* (4,0%), mnogosemenska metlika - *Chenopodium polyspermum* (2,0%), vsi ostali pleveli (bela metlika, njivska preslica, njivski slak in baržunasti oslez) pa v 1,0 % deležu.

Preglednica 4: Rezultati ocenitve z vizualno metodo – 1. del

Table 4: Assessment of experiment with visually procedure – part one

Latinsko ime plevela	Slovensko ime plevela	Bayer koda plevela	Povprečna pokrovnost plevelov (4 ponovitev)
<i>Echinochloa crus-galli</i>	Navadna kostreba	ECHCG	90,0 %
<i>Bidens tripartitus</i>	Trodelni mrkač	BIDTR	4,0 %
<i>Chenopodium polyspermum</i>	Mnogosemenska metlika	CHEPO	2,0 %
<i>Chenopodium album</i>	Bela metlika	CHEAL	1,0 %
<i>Equisetum arvense</i>	Njivska preslica	EQUAR	1,0 %
<i>Convolvulus arvensis</i>	Njivski slak	CONAR	1,0 %
<i>Abutilon theophrasti</i>	Baržunasti oslez	ABUTH	1,0 %

Najvišjo skupno učinkovitost delovanja herbicidov na zastopane plevele je pokazal postopek 6 (Basagran 600 + Dual Gold 960 EC – 96,5%), ta kombinacija herbicidov pa je tudi pokazala najvišje učinkovitosti na vse zastopane plevele razen na njivsko preslico, povprečna pokrovnost plevelov pri tem postopku pa je bila najnižja (1,1 %).

Visoko učinkovitost so še pokazali postopki 7 (Plateen WG 41,5 + Basagran 600 – 93,9%), 2 (Sencor + Dual Gold 960 EC – 93,0%) in 8 (Fusilade forte + Harmony 75 WG – 90,8%), pri katerih je bila tudi pokrovnost plevelov ustrezno nizka – od 1,5 do 3,2 %.

Postopki 1 (Stomp 330 E + Dual Gold 960 EC), 3 (Afalon + Dual Gold 960 EC), 4 (Harmony 75 WG + Focus ultra) in 5 (Harmony 75 WG + Dual Gold 960 EC) pa so pokazali najnižjo skupno učinkovitost delovanja na plevele in sicer med 83,8 in 87,5%.

Najvišji delež pokrovnosti plevelov smo ugotovili pri postopkih 1 (Stomp + Dual) in 4 (Harmony + Focus ultra), kjer so bile tudi skupne učinkovitosti navedenih postopkov (herbicidov) ustrezno nižje od ostalih.

Fitotoksičnosti nismo opazili pri nobeni preizkušani kombinaciji herbicidov.

Preglednica 5: Rezultati ocenitve z vizualno metodo – 2. del
Table 5: Assessment of experiment with visually procedure – part two

Postopek	Plevel (Bayer koda)							Fitotoks.	Pokrovnost plevelov	Skupna učinkov.
	ECHCG	BIDTR	CHEPO	CHEAL	EQUAR	CONAR*	ABUTH**			
1. Stomp 330 E + Dual Gold 960 EC	82,5	17,5	52,5	100	15	10	50	0	5,0 %	83,8
2. Sencor + Dual Gold 960 EC	88,8	65	99,5	97,5	16,7	20	100	0	1,5 %	93,0
3. Afalon + Dual Gold 960 EC	86,3	10	60	96,3	20	0	50	0	3,8 %	83,8
4. Harmony 75 WG + Focus ultra	77,5	67,5	73,8	100	16,7	10	70	0	5,3 %	87,5
5. Harmony 75 WG + Dual Gold 960 EC	72,5	91,5	78,8	99,5	15	100	100	0	4,3 %	87,3
6. Basagran 600 + Dual Gold 960 EC	91,3	100	100	100	23,3	100	100	0	1,1 %	96,5
7. Plateen WG 41,5 + Basagran 600	79,3	100	100	100	17,5	100	100	0	3,2 %	93,3
8. Fusilade forte + Harmony 75 WG	89,5	68,3	74,5	100	13,3	NO	100	0	1,9 %	90,8
9. Kontrola – neškropljeno	90	4	2	1	1	1	1	-	94,5 %	-

* - ocenitev le ene ponovitve; ** - ocenitev le dveh ponovitev; NO - neocenjeno

4 SKLEPI

- odlične rezultate so pokazale tiste kombinacije herbicidov, pri katerih je bil vključen herbicid Basagran 600 (Basagran 600 + Dual Gold 960 EC in Plateen WG 41,5 + Basagran 600);
- kombinacija herbicidov pri postopku 6 (Basagran 600 + Dual Gold 960 EC) je tudi pokazala najvišje učinkovitosti delovanja na vse zastopane plevela razen na njivsko preslico;
- še dovolj visoko učinkovitost delovanja na zastopane plevela sta pokazala postopka 2 (Sencor + Dual Gold 960 EC) in 8 (Fusilade forte + Harmony 75 WG);
- v primeru povečanega obsega pridelave soje v Sloveniji bo potrebno zagotoviti dovolj širok izbor herbicidov, predvsem za zatiranje širokolistnih plevelov po vzniku soje (trenutno je na voljo le en herbicid);
- zaradi slabe tekmovalne sposobnosti soje proti plevelom je pridelava soje smiselna le na dobro pripravljenih in "razpleveljenih" njivah;
- ob takšni skromni izbiri herbicidov je priporočljivo izvajati "kombinirano" zatiranje plevelov v soji: mehansko (okopavanje medvrstnega prostora) in kemično (herbicidi).

5 LITERATURA

- Miklavc, J., Mešl, M., Matko, B. Poročilo o biološkem preizkušanju fitofarmaceutskih sredstev v sezoni 2007 za herbicide v soji (*Glycine max*). KGZS – Zavod Maribor, 2007.
- FITO-INFO, Informacijski sistem za varstvo rastlin, 20. 4. 2009. <http://www.fito-info.bf.uni-lj.si/Fito2/index.asp>
- Püntener, W. 1981. Manual für Feldversuche im Pflanzenschutz. Zweite, überarbeitete und ergänzte Auflage. Ciba – Geigy AG, Basel, Schweiz. s. 45 – 72
- Džuban, T., et al. Tehnološka navodila za integrirano pridelavo poljščin: leto 2008. Ljubljana. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, 2008. s. 68 – 69
- Džuban, T., et al. Tehnološka navodila za integrirano pridelavo poljščin: leto 2009. Ljubljana. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, 2009. s. 71 – 72

ANALIZA ZASTOPANOSTI POSAMEZNIH SKUPIN FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV V ŠKROPILNIH PROGRAMIH VARSTVA JABLANOVIH NASADOV V LETIH 2007 IN 2008

Gustav MATIS¹

Maribor

IZVLEČEK

Letos bo minilo že osemnajst let od začetka organizirane integrirane ali okolju prijazne pridelave jabolk v Sloveniji. Ta način pridelave je prav gotovo pripomogel k ohranjanju ekosistema v trajnih nasadih. V prispevku želimo prikazati zastopanost posameznih skupin FFS v 26 oz. 30 škropilnih programih. Skupna površina nasadov, ki smo jih zajeli v analizo ali preverjanje, je znašala v prvem 780 in v drugem letu 1200 ha. Poleg številčnosti uporabe FFS smo pozornost namenili odstopanjem glede števila dovoljenih uporab za posamezne skupine-navedene v tehnoloških navodilih. Predstavljeni podatki so bili zbrani med obiskom izbranih pridelovalcev – sadjarjev.

Ključne besede: fitofarmacevtska sredstva, jablana, škropilni program

ABSTRACT

ANALYSIS OF REPRESENTATION OF INDIVIDUAL GROUPS OF PLANT-PROTECTION PRODUCTS IN SPRAY PROGRAMMES FOR PROTECTION OF APPLE ORCHARDS IN YEARS 2007 AND 2008

As of this year, eighteen years have passed since the beginning of the organised integrated or environmentally friendly production of apples in Slovenia. This method of production has undoubtedly contributed significantly to the preservation of the ecosystem in permanent crops. The selective and opportune use of plant protection products has surely contributed a great deal thereto. In this article we wish to demonstrate the representation of individual groups of plant protection products in 26 or 30 spray programmes. The total area of orchards included in this analysis or evaluation amounted to 780 ha in the first year and 1200 ha in the second year. In addition to the amount of the plant protection products used, we paid attention to derogations regarding the number of authorised uses for individual groups, laid down in technological instructions. We have established that a large number of market apple producers have followed prescribed limitations and thereby contributed to the sustainable use of certain preparations used for the control of apple scab and apple borer, which by far require the most spraying.

Key words: pesticides, apple, spray programme

1 Glavne značilnosti oz. rezultati analize – leto 2007

Povprečno število tretiranj ali škropljenj je bilo 16,5 (najmanj 13x in največ 23x). Več škropljenj je bilo opravljenih na večjih sadjarskih posestvih s površino nad 20 ha in sicer 19.

Na manjših sadjarskih obratih, z manj kot 20 ha, pa 15 škropljenj.

¹ mag. agr. znan., upokojenec

Preglednica 1: Zastopanost posameznih skupin FFS v škropilnih programih varstva jablanovih nasadov v letu 2007

FUNGICIDI	Zastopanost v %	Število tretiranj od-do	Povprečno število tretiranj	Dovoljeno število tretiranj	Prekoračitev v %
IBE – fungicidi	96	0 – 5	3	3 – 4	4
strobilurini	96	0 – 5	2,8	3	27
anilinopirimidini	96	0 – 7	2,9	4	4
ditianon (Delan)	100	1 – 7	3,8	4	35
ditiokarbamati	100	1 – 8	4,2	4	42
kaptan (Merpan)	100	1 – 7	4,2	5 – 6	(15)
dodin (Syllit)	46	0 – 3	0,7	3	-
Cu – pripravki	96	0 – 1,5	1,1	ČU	-
S - pripravki	88	0 – 12	4,9	5	30
dinokap (Karathane)	27	0 – 2	0,3	2	-
penkonazol (Topas 100 EC)	19	0 – 3	0,3	3	-
Bellis WG	85	0 – 2	1,0	3	-

IBE-fungicidi, kakor tudi strobilurini in anilinopirimidini so bili v času primarnih okužb uporabljeni vedno skupaj s kontaktnim ali površinskim pripravkom, kar potrjuje velika povprečna uporaba fungicidov, ki je bila 29,2.

Preglednica 2: Zastopanost insekticidov posameznih skupin v škropilnih programih v letu 2007

INSEKTICIDI	Zastopanost v %	Število tretiranj od-do	Povprečno število tretiranj	Dovoljeno število tretiranj	Prekoračitev v %
IRI – insekticidi	65	0 - 2	0,8	2	-
MAC – insekticidi	50	0 - 2	0,65	2	-
Neonikotinoidi	96	0 - 4	1,8	2 – 3	4
Organofosforni pripravki	100	1 - 6	3	2 – 3	27
Indoksakarb (Steward)	23	0 - 1	0,2	2	-
Bioinsekticidi (Madex)	19	0 - 4	0,3	6	-
Kodlemone – RAK 3	12	-	-	-	-
Oleopripravki	85	0 - 1	0,8	ČU	-

Povprečno število tretiranj oz. uporab insekticidov proti jabolčnemu zavijaču je bilo 6.

Proti jabolčni grizlici so bili uporabljeni v veliki večini programov »neonikotinoidi«.

tiakloprid (Calypso)	v 15 programih	(58%)
acetamprid (Mospilan)	v 7 programih	(27%)
imidakloprid (Confidor)	v 1 programu	(4%)
diazinon (Diazol 50)	v 1 programu	(4%)
brez uporabe insekticida	v 2 programih	(7%)

Uporaba akaricidov v času rastne dobe je bila zelo racionalna in v večini primerov samo s spirodoklofenom (Envidor), ki je imel 38% zastopanost, kar pomeni, da v večini nasadov ni bilo potrebno uporabiti akaricidov. V 2 programih je bil uporabljen še fenazakvin (Demitan) in v enem klofentezin (Apollo).

2 Analiza škropilnih programov za varstvo jablan v letu 2008

Povprečno število tretiranj ali škropljenj je bilo 18,2 (najmanj 13 in največ 22). Tudi v tem letu je bilo več škropljenj na večjih posestvih, povprečno 19,4 in manj na manjših, 17,2.

Preglednica 3: Zastopanost posameznih skupin FFS v škropilnih programih varstva jablanovih nasadov v letu 2008

FUNGICIDI	Zastopnost v %	Število tretiranj od-do	Povprečno število tretiranj	Dovoljeno število tretiranj	Prekoračitev v %
IBE – fungicidi	97	0 – 6	3,2	3 – 4	19
strobilurini	97	0 – 6	3,1	3	34
anilinopirimidini	100	1 – 8	2,7	4	12
ditianon (Delan)	97	1 – 9	3,8	4	22
ditiokarbamati	100	2 – 8	5,0	4	56
kaptan (Merpan)	100	1 – 7	4,4	5 – 6	9
dodin (Syllit)	66	0 – 3	1	3	-
Cu – pripravki	100	1 – 2,5	1,25	ČU	-
S – pripravki	94	0 – 11	4,8	5	37
penkonazol (Topas 100 EC)	12	0 – 3	0,25	3	-
Bellis WG	84	0 – 3	1,5	3	-

Tudi v tem letu so sadjarji v času primarnih okužb z jablanovim škrlupom IBE-fungicidom, strobilurinom in anilinopirimidinskim pripravkom dosledno dodajali kontaktne fungicide in tako povečali učinkovitost zatiranja jabolčnega škrlupa. Povprečna uporaba fungicidov v škropilnih programih je bila 31,3.

Preglednica 4: Zastopanost posameznih skupin insekticidov v škropilnih programih v letu 2007

INSEKTICIDI	Zastopnost v %	Število tretiranj od-do	Povprečno število tretiranj	Dovoljeno število tretiranj	Prekoračitev v %
IRI – insekticidi	59	0 - 2	0,8	2	-
MAC – insekticidi	59	0 - 2	0,8	2	-
Neonikotinoidi	100	1 - 4	2,5	2 – 3	12
Organofosforni pripravki	100	0 - 3	2,1	2 – 3	-
Indoksakarb (Steward)	19	0 - 1	0,17	3	-
Bioinsekticidi (Madex)	22	0 - 4	0,5	6	-
Kodlemone – RAK 3	-	-	-	-	-
Oleopripravki	100	1	1	ČU	-

Povprečno število škropljenj oz. uporab insekticidov proti jabolčnemu zavijaču je bilo tudi v tem letu 6.

Proti jabolčni grizlici so bili v letu 2008 uporabljeni samo »neonikotinoidi«, ki so hkrati delovali proti listnim ušem, sadnemu listnemu duplinarju in fitofagnim stenicam.

acetamprid (Mospilan)	v 15 programih	(47%)
tiakloprid (Calypso)	v 10 programih	(31%)
imidakloprid in tiametoksam	v 4 programih	(12%)
brez uporabe insekticida	v 3 programih	(10%)

V letu 2008 je bila v primerjavi z 2007 povečana uporaba akaricidov. V tem letu so sadjarji tudi prvič uporabljali Milbeknock (milbemectin), ki je soroden z Vertimecom (abamaktin). V zimi 2008/2009 opazamo v nasadih jablan močno povečanje zimskih jajčec rdeče sadne pršice. Dovoljeni akaricidi so bili uporabljeni v 16 programih (50 %). Največji delež uporabe so imeli akaricidi Envidor, Vertimec in Milbeknock.

3 SKLEPI

- Rezultati analize škropilnih programov dveh let kažejo, da med obema letoma ni značilnega odstopanja oz. razlik.
- Razmerje med uporabljenimi IBE fungicidi v času primarnih okužb z jablanovim škrlupom je bilo difenkonazol (72%) : fenbukonazol (18%) : miklobutanil (10%).
- Razmerje med uporabo krezoksim-metil in trifloksistrobin je bilo 60% : 40%.
- Razmerje med uporabljenimi FF-sredstvi z učinkovino pirimetanil (Mythos, Clarinet) in ciprodinil (Chorus) je bilo 61,6% : 38,4%.
- Dovoljena uporaba IBE fungicidov je bila prekoračena predvsem v letu 2008 (v 19% programov).
- Uporaba strobilurinskih pripravkov je bila v obeh letih presežena (27% in 34%).
- Pri uporabi kontaktnih ali površinskih fungicidov je daleč največje odstopanje zabeleženo pri ditiokarbamatih (42 oz. 56%).
- Menimo, da odstopanja pri uporabi pripravkov z učinkovino ditianon in kaptan niso zaskrbljujoča, saj tovrstne omejitve v razvitih sadjarskih deželah ne poznajo.
- Število dovoljenih uporab so v letu 2007 presegli organofosforni insekticidi (27%) in v letu 2008 neonikotinoidi (12%).

STRATEGIJA ZATIRANJA JABOLČNEGA ZAVIJAČA (*Cydia pomonella*) V RAZMERAH NARAŠČAJOČE ODPORNOSTI

Gustav MATIS¹

Maribor

IZVLEČEK

Jabolčni zavijač je najbolj znan in razširjen škodljivec jabolk. Škoda, ki jo povzroča iz leta v leto niha, doseže pa lahko tudi 20 do 50 % črvivih plodov, izjemoma pa tudi več. V tehnoloških navodilih za integrirano pridelavo sadja je bilo v zadnjih treh letih zapisano: "Cilj pri zatiranju jabolčnega zavijača je, da izvedemo največ štiri neposredne uporabe insekticidov. V zadnjem obdobju v številnih nasadih z zelo velikimi populacijami metuljčkov in z delno odpornostjo na nekatere insekticide takšen pristop ne zagotavlja več popolnega varstva, kljub temu pa ne smemo preveč lahkomišno povečevati števila škropljenj". Prenekateri sadjar (tehnolog) in svetovalec se sprašuje, kako doseči ta cilj. Rezultati analize 26 škropilnih programov varstva jablan iz leta 2007 in 32 iz leta 2008, ki so bili uporabljeni na 780 oz. 1200 ha jablanovih nasadov kažejo, da je bilo proti jabolčnemu zavijaču v povprečju opravljenih 6 škropljenj z insekticidi (največ 8).

Ključne besede: jabolčni zavijač, *Cydia pomonella*, odpornost, zatiranje

ABSTRACT

STRATEGY OF CONTROLLING THE APPLE BORER (*Cydia pomonella*) IN CONDITIONS OF INCREASED RESISTANCE

The apple borer is the most common and well-known apple pest. The damage it causes varies every year, but it can reach as much as 20 to 50% of grubby fruits, and sometimes even more. The technological instructions for the integrated production of fruits for the year 2008 also lay down the following: "the objective of the apple borer control is to perform four direct uses of insecticides at most. In the last period, in numerous orchards, with large populations of butterflies and partial resistance to some insecticides, this approach does not ensure a perfect protection, however in spite of that, we may not increase the number of sprays too carelessly." Many fruit producers (technologists) are wondering how to reach this objective. Analysis of the 26 spray programmes for the apple trees protection in 2007 as used in 780 ha show that on average, as few as 6 insecticide treatments and as many as 8 were carried out against the apple borer.

Ključne besede: apple borer, *Cydia pomonella*, resistance, control

1 Kje so vzroki dražjega in pogosto ne dovolj uspešnega zatiranja jabolčnega zavijača?

Prav gotovo jih je več, menimo da so naslednji zelo pomembni:

- Ugodne vremenske razmere za razvoj škodljivih vrst zavijačev v zadnjih dveh desetletjih omogočajo daljši neprekinjen pojav metuljčkov jabolčnega zavijača v nasadih sadnega drevja (od konca aprila in celo do sredine septembra).
- Zmanjšan izbor insekticidov proti jabolčnemu zavijaču.

¹ mag. agr. znan., upokojenec

- Visoka cena dispenzorjev ali difuzorjev, ki otežuje širitev metode zbeganja ali konfuzije, ki bi prispevala k antirezistentni strategiji in učinkovito zmanjšala črvičnost plodov.
- Neugodna starostna struktura nasadov, zato zahtevnejša aplikacija FFS.
- V sortimentu prevladujejo sorte, ki so najboljši gostitelji jabolčnega zavijača (idared, jonagold, gala, elstar).
- Ne dovolj kakovostno redčenje plodov (pogosto tudi zaradi nezadovoljive preskrbe z ustreznimi pripravki).
- Delna oz. že dokaj opazna odpornost na nekatere insekticide.

2 Kako doseči zastavljeni cilj?

V tehnoloških navodilih je med drugim še zapisano: »Sredstva na podlagi virusa granuloze (Madex) so pri zatiranju zavijačev dobro dopolnilo klasičnim insekticidom. Enako velja za uporabo metode konfuzije. Z virusi in z uporabo konfuzije lahko nekoliko razbremenimo selekcijski pritisk na zavijače. Z uporabo virusov granuloze nekoliko povečamo učinkovitost slabše delujočih insekticidov, ker imajo interaktivni učinek (fiziološka oslabeitev gosenic). Pripravki na podlagi virusa granuloze so najbolj učinkoviti v razmerah z visoko zračno vlago in zmanjšanim sončnim sevanjem.« Zato je njihova uporaba priporočljiva predvsem v času zatiranja prvega rodu.

Znano je, da so sadjarji v nekaterih deželah v zadnjih desetih oz. dvajsetih letih z razširitvijo metode zbeganja ali konfuzije in dopolnilno uporabo sredstev na podlagi virusa granuloze občutno zmanjšali uporabo klasičnih insekticidov. Na ta način so zagotovili antirezistentno strategijo in optimalno učinkovitost zatiranja jabolčnega zavijača. To velja predvsem za Francijo, Južno Tirolsko, Švico, Nemčijo, Španijo in Avstrijo.

Po podatkih »Agroscope« (2008) iz Wädenswil-a je metoda zbeganja ali konfuzije v posameznih deželah ali pokrajinah zelo različno razširjena. Na Južnem Tirolskem na kar 75% vseh površin jablanovih nasadov, v pokrajini Trentino ter v Španiji (Lleida) na 30%, v Franciji na področju Rhone na 40%, v Švici ob Bodenskem jezeru pa na 50% površin, medtem ko je na nemški strani jezera le 15% površin pokritih z difuzorji.

Na področju Bodskega jezera v Švici in na Južnem Tirolskem na 2/3 površin s konfuzijo ni potrebna dodatna uporaba insekticidov. Na ostali 1/3 površin je potrebna 1-2x uporaba virusov granuloze. Menijo, da je zatiranje jabolčnega zavijača zahtevnejše in vsekakor dražje v tistih regijah, kjer ima škodljivcev v letu 2 do 3 rodove.

Pri nas imamo le neznatno (zanemarljivo) uporabo metode zbeganja, saj je v zadnjih treh letih prodaja dispenzorjev dosegla 60 do 80.000 kom. S to količino je možno brez potrebne zgostitve difuzorjev ob robovih parcel obdelati 120 do 160 ha jablanovih nasadov, kar predstavlja le 5% vseh sadovnjakov zasajenih z jablano. Menimo, da se tudi pri nas v bodoče ne bomo mogli izogniti večji uporabi metode konfuzije, če želimo zmanjšati odstotek škode.

Rezultati demonstracijskega poskusa zatiranja jabolčnega in breskovega zavijača z metodo zbeganja ob dodatni uporabi insekticidov, ki smo ga izvedli v lanskem letu so dovolj obetavni, zato jih želimo na kratko prikazati.

Poskus je bil opravljen na večji parceli sorte gala na Libanji (SVV Ormož). Na tej, kakor tudi na sosednjih parcelah je bil v letu 2007 zabeležen močan pojav črvičnosti plodov, ki so ga pripisovali obema vrstama zavijačev. Proizvajalci dispenzorjev za metodo konfuzije v nasadih, kjer je bila škoda (črvičnost) v predhodnem letu mnogo večja od praga škodljivosti, priporočajo dodajanje klasičnih insekticidov vsaj tako dolgo, dokler škoda ne pade pod prag (1-2%).

Poskusno parcelo smo razdelili na dve polovici s površino 4 ha. Na zgornjem delu parcele smo v začetku maja obesili 500 dispenzorjev RAK 5 proti breskovemu zavijaču in na spodnjem delu prav tako 500 dispenzorjev RAK 3 na ha proti jabolčnemu zavijaču.

Izbor uporabljenih insekticidov in datumi škropljenj

1.	29. maj	- Calypso SC 480	0,3 L/ha
2.	13. junij	- Diazol 50 EW	1,5 L/ha
3.	23. junij	- Madex	0,1 L/ha
4.	7. julij	- Runner 240 SC + Madex	0,45 L/ha + 0,05 L/ha
5.	21. julij	- Pyrinex 25 SC	3 L/ha
6.	1. avgust	- Runner 240 SC	0,45 L/ha

(poraba vode na ha 500 L)

Lokacija poskusa: Libanja (SVV Ormož), sorta: gala, starost nasada: 10 let.

Ocenitev poskusa smo opravili 18. avgusta tako, da smo na naključno izbranih osmih oz. desetih drevesih potrgali vse plodove in pobrali tudi odpadle pod krošnjo. Plodove smo temeljito pregledali in natančno določili vrsto poškodb na jabolkih.

Preglednica 1: Rezultati ocenitve v postopku RAK 5 + dodatno insekticidi

Ponovitve (drevo)	Nepoškodovani plodovi	Poškodovani plodovi (jabolčni zavijač)	Poškodovani plodovi od ZLS	Poškodovani plodovi od breskovega zavijača	Neidentificirane poškodbe*	Vsi plodovi
1 – drevo	64	7	3	0	4	78
2 – drevo	102	3	0	0	1	106
3 – drevo	82	7	1	0	3	93
4 – drevo	101	12	1	0	1	115
5 – drevo	65	6	1	0	1	73
6 – drevo	75	5	6	0	1	87
7 – drevo	102	3	1	0	5	111
8 – drevo	90	5	5	0	4	104
Skupaj	681	48	18	0	20	767
	88,8%	6,2%	2,4%	0%	2,6%	100%

(ZLS = zavijač lupine sadja)

* neidentificirane poškodbe (nedoločljive) – poškodbe niso dovolj značilne za zastopane vrste zavijačev

Preglednica 2: Rezultati ocenitve v postopku RAK 3 + dodatno insekticidi

Ponovitve (drevo)	Nepoškodovani plodovi	Poškodovani plodovi (jabolčni zavijač)	Poškodovani plodovi od ZLS	Poškodovani plodovi od breskovega zavijača	Neidentificirane poškodbe*	Vsi plodovi
1 – drevo	54	2	0	0	0	56
2 – drevo	57	1	1	1	2	62
3 – drevo	49	1	0	1	1	52
4 – drevo	61	1	0	0	2	64
5 – drevo	80	7	1	0	1	89
6 – drevo	53	2	1	0	3	59
7 – drevo	69	2	0	0	1	72
8 – drevo	87	0	0	0	0	87
9 – drevo	71	5	1	2	1	80
10 – drevo	61	5	0	1	3	70
Skupaj	642	26	4	5	14	691
	92,9%	3,8%	0,6%	0,7%	2,0%	100%

(ZLS = zavijač lupine sadja)

* neidentificirane poškodbe (nedoločljive) – poškodbe niso dovolj značilne za zastopane vrste zavijačev

Podatki iz Preglednice 2 kažejo na dokaj uspešno varstvo jabolk z dispenzorji RAK 3 proti jabolčnemu zavijaču. Upoštevati moramo, da gre za značilno sadjarsko-vinogradniško lego, na kateri je v jeseni 2007 ocenjena škoda (črvivost) znašala okrog 20%.

Manj prepričljivi so rezultati iz prve preglednice, saj je tu šlo za dispenzorje RAK 5, ki delujejo proti breskovemu zavijaču. Upoštevati moramo tudi dejstvo, da v lanskem letu vremenske razmere niso bile tako naklonjene razvoju jabolčnega zavijača kot leto prej.

3 Kaj je potrebno še storiti za zmanjšanje škode, ki jo povzročata jabolčni in breskov zavijač v naših nasadih?

- Bolj dosledno moramo upoštevati priporočila, ki so zapisana v tehnoloških navodilih za zatiranje jabolčnega zavijača, kar pomeni, da moramo na najbolj ogroženih legah (parcelah) razširiti oz. uvesti metodo konfuzije ali dezorientacije. Metodo dopolnjevati z uporabo ekološko sprejemljivih insekticidov (virusi granuloze,...).
- Potrebno je ugotoviti ali se pri nas res pojavlja tudi tretji rod jabolčnega zavijača in kje (na Južnem Tirolskem so zanesljivo opazili oz. ugotovili pojav tretjega rodu šele v letu 2007).
- Zaželeno bi bilo določiti ožja področja (lokacije), kjer jabolčni zavijač povzroča največ škode in za ta območja pripraviti čim uspešnejšo strategijo zatiranja. Podobno so naredili na Južnem Tirolskem pred desetimi leti. Svoje sadovnjake so razdelili v štiri »težavnostne« skupine in jim prilagodili potrebne ukrepe za čim bolj uspešno zatiranje.
- Edini še preostali organofosforni insekticid (Pyrinex 25 CS – klorpirifos), ki kaže visoko učinkovitost proti jabolčnemu zavijaču je potrebno uporabiti v najbolj kritičnem obdobju; navadno v drugi polovici julija in v začetku avgusta (pozne sorte).
- V poljskih poskusih je potrebno preveriti učinek entomopatogenih ogorčic iz rodu *Steinernema* na preživetje diapavzalnih gosenic in na zmanjšanje škode jabolčnega zavijača v naslednjem letu. V zadnjih dveh letih sta bili pri nas dokazani vsaj dve vrsti entomopatogenih ogorčic in sicer *Steinernema feltiae* ter *Steinernema carpocapsae*, ki ju sedaj pri nas smatramo kot domorodni vrsti. V lanski jeseni sta bila organizirana dva demonstracijska (poljska) poskusa na dveh lokacijah. Škropljenje je bilo opravljeno ob koncu oktobra oz. v začetku novembra po priporočilih proizvajalca ogorčic (odmerek, čas in način aplikacije).
- Mnogi naši sadjarji si želijo, da bi se tudi v bodoče na našem trgu pojavljali novi, ekološko sprejemljivi in dovolj učinkoviti insekticidi. V zelo bližnji prihodnosti si precej obetamo od novega pripravka Coragen SC (klorantraniliprol), ki je bil v lanskem letu v Sloveniji že preizkušen in je pokazal visoko učinkovitost. Pripravek je že dovoljen v nekaterih državah EU.

SPREMLJANJE SEZONSKE DINAMIKE OREHOVE MUHE (*Rhagoletis completa* Cresson) V LETU 2008 Z RUMENIMI LEPLJIVIMI PLOŠČAMI IN REZULTATI PREIZKUŠANJA INSEKTICIDOV

Jože MIKLAVC¹, Miro MEŠL², Boštjan MATKO³, Anita SOLAR⁴

^{1,2,3}KGZS-Kmetijsko gozdarski zavod Maribor

⁴Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Raziskovalno polje za lupinarje, Maribor

IZVLEČEK

V poskusu zatiranja orehove muhe, izvedenem na sortah 'Novosadski kasni' in 'Franquette' smo uporabili insekticide Perfekthion, Calypso in GF 120. V kontroli - neškropljeno je bil delež v celoti napadenih plodov 25,2% ('Novosadski kasni') oziroma 37,4% ('Franquette'). Med preizkušanimi insekticidi smo na sorti 'Franquette' ugotovili 21,8% plodov s popolnoma poškodovano lupino pri insekticidu Perfekthion, pri insekticidu Calypso 16,8% in pri insekticidu GF 120 24,0%. Na sorti 'Novosadski kasni' je imelo pri insekticidu Perfekthion 22,7% plodov popolnoma poškodovano lupino, pri insekticidu Calypso 23,3% in pri insekticidu GF 120 27,8%. V letu 2008 smo z rumenimi lepljivimi ploščami spremljali let orehove muhe v nasadih oreha Maribor in Razvanje. Let imaga na lokaciji Maribor z dvema vrhoma leta (31. 7. in 8. 9.) se je začel v ob koncu julija in končal v začetku tretje dekade septembra, na lokaciji Razvanje pa se je začel v sredini druge dekade julija in končal v začetku tretje dekade septembra. Vrh leta je bil 31. 7. in 14. 8. Za primerjavo učinkovitosti ulova orehove muhe smo pojav spremljali s tremi tipi rumenih plošč. Na rumene plošče Rebell® amarillo se je ujelo največ orehovih muh v obeh nasadih oreha.

Ključne besede: orehova muha, *Rhagoletis completa*, delež napadenih plodov

ABSTRACT

RESEARCH ON SEASONAL DYNAMICS OF WALNUT HUSK FLY (*Rhagoletis completa* Cresson) IN 2008 USING YELLOW STICKY BOARDS AND THE RESULTS OF INSECTICIDES EFFICACY

In Slovenia, walnut husk fly (WHF) was first recorded in 1997, in the SW part of the country. Nowadays, it is active all over the country except in the area close to the Slovenian – Hungarian border. Observations, performed during the year 2003, showed that in the Maribor area (NE), losses due to WHF damage exceeded 50 %. Over the last three years, great effort have been made to improve our knowledge regarding the WHF, and to find an efficient method of control. During the years 2007 and 2008, the seasonal dynamics of the WHF have been followed at two locations. In 2007, flies were present from the 16/July to 12/Sept. Using yellow sticky traps, three peaks of adult emergence (27/July, 7/August and 12/Sept) were recorded in Maribor, while in Razvanje, only one peak (21/Aug) was noted. In 2008, the adults appeared twelve days later than in the previous year, and were caught until the 23/Sept on both locations. Two peaks of emergence have been observed in Maribor (31/July and 8/Sept), as well as in Razvanje (31/July and 14/Aug). The WHF was monitored using

¹ mag. agr. znan., Vinarska 14, SI-2000 Maribor

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ dr., viš. znan. sod., prav tam

three types of traps. Considering their surface and the number of the caught flies, the trap **Rebell® amarillo** (Andermatt Biocontrol AG) was the most efficient.

Key words: Walnut husk fly, *Rhagoletis completa*, percentage of infested nuts

1 UVOD

Orehova muha (*Rhagoletis completa* Cresson Diptera, Tephritidae) je karantenski škodljivec na listi A1 Aneska 1 Evropske unije. V Evropi je bila prvič ugotovljena letu 1986 v Švici, ter nekaj let kasneje tudi severni Italiji (Duso, 1991). V Sloveniji so jo prvič odkrili v Vipavski dolini leta 1997, predvideva se, da izvira iz Italije. Stopnja napada na plodovih v Vipavski dolini je bila v letu odkritja visoka, od 87 do 100% v letu 1997 in v letu 1998 od 24 do 47 % (Seljak and Žežlina, 1999).

V severovzhodni Sloveniji je bila orehova muha prvič ugotovljena v letu 2003. Posebni nadzor orehove muhe je v letu 2005 pokazal, da je orehova muha razširjena v večjem delu Slovenije, izjema je le Prekmurje. Opazovanja v obdobju od 2005 do 2008 so pokazala, da je bil napad orehove muhe v nasadih oreha v Mariboru večji od 50%, na nekaterih lokacijah – predvsem na posameznih drevesih na vrtovih je bilo stopnja napada večja od 80%.

V raziskavi smo spremljali sezonsko dinamiko leta imaga orehove muhe na dveh nasadih oreha. Ulov smo spremljali z rumenimi lepljivimi ploščami 3 proizvajalcev. S škropilnim poskusom smo ugotavljali, kako učinkoviti so insekticidi, če poškopimo samo južno stran krošnje oreha do višine 4 metrov.

2 MATERIAL IN METODE

Sezonsko dinamiko smo spremljali na dveh lokacijah – nasadih oreha. Prvi nasad je last Biotehniške fakultete v Ljubljani. Nahaja se na Vrbanškem platoju v Mariboru, velikost nasada je bila 2,0 ha, starost dreves pa med 12 in 19 leti. Drevesa so bila visoka med 10 in 12 m. Lega nasada je ravninska.

Drugi nasad je bil v Razvanju pri Mariboru, Šlo je za 20 let star nasad več sort, na nagnjenem terenu. Višina dreves je bila okoli 12 metrov. Sezonsko dinamiko smo spremljali samo na sortah 'Franquette' in 'Novosadski kasni'.

Let imaga orehove muhe smo spremljali z rumenimi lepljivimi ploščami treh proizvajalcev in sicer Pherocon AM (Trécé), **Rebell® amarillo** (Andermatt Biocontrol AG) in Pinus. Velikost rumenih plošč Pherocon AM (Trécé) je bila 18 x 23 cm, s površino 414 cm², velikost rumenih plošč **Rebell® amarillo** (Andermatt Biocontrol AG) je bila 23 x 15 cm, s površino 1380 cm² in rumenih plošč Pinus 32 x 21 cm s površino 966 cm².

V obeh nasadih je bilo postavljenih po 5 rumenih plošč vsakega proizvajalca, ki so predstavljale 5 ponovitev. Plošče so bile postavljene v krošnjo na višino 2 m. Kontrolo populacije orehove muhe smo opravljali vsakih 7 do 10 dni. Rumene plošče smo menjavali mesečno.

Poskus z različnimi insekticidi smo izvedli v nasadu oreha v Razvanju. Velikost poskusa je bila 0,25 ha. V poskus sta bili vključeni sorti 'Franquette' in 'Novosadski kasni'. Škropili smo z nahrbtnim pršilnikom Stihl ob porabi 3,3 l/drevo, kar pomeni ob gostoti 120 dreves 400 litrov vode na hektar. Poskus je bil postavljen po metodi naključnih blokov s tremi ponovitvami. V posamezni ponovitvi smo tretirali samo eno drevo in sicer južno stran do višine 4 m. Seznam pripravkov in datumi škropljenj so prikazani v preglednici 1.

Poskus smo ocenili 30. 9. 2008 v fenološki fazi 87 po BBCH skali (plodovi, zreli za obiranje). Za izračun učinkovitosti smo za posamezno ponovitev pregledali 150 plodov, skupaj za postopek 450 plodov. Plodove smo vizualno ocenili ali so zdravi ali napadeni od orehove muhe, ter jih glede na površino napadene lupine razdelili v štiri razrede. V razredu I so bili plodovi s popolnoma zdravo lupino, v razredu II z lupino napadeno do 1/3 površine, v razredu III od 2/3 do 3/3 in Razredu IV plodovi s popolnoma napadeno lupino.

Za statistično analizo smo uporabili analizo variance (ANOVA). V izračun statistično značilnih razlik smo uporabili kumulativno vsoto ulovljenih muh po posameznem tipu rumenih plošč a površino napadenih plodov. Stopnja zaupanja je bila 95%. Zaradi variabilnosti je bila uporabljena tranformacija podatkov s kvadratnim korenem. Za izračun statistično značilnih razlik med posameznimi povprečji obravnavanj je bil uporabljen Duncanov test.

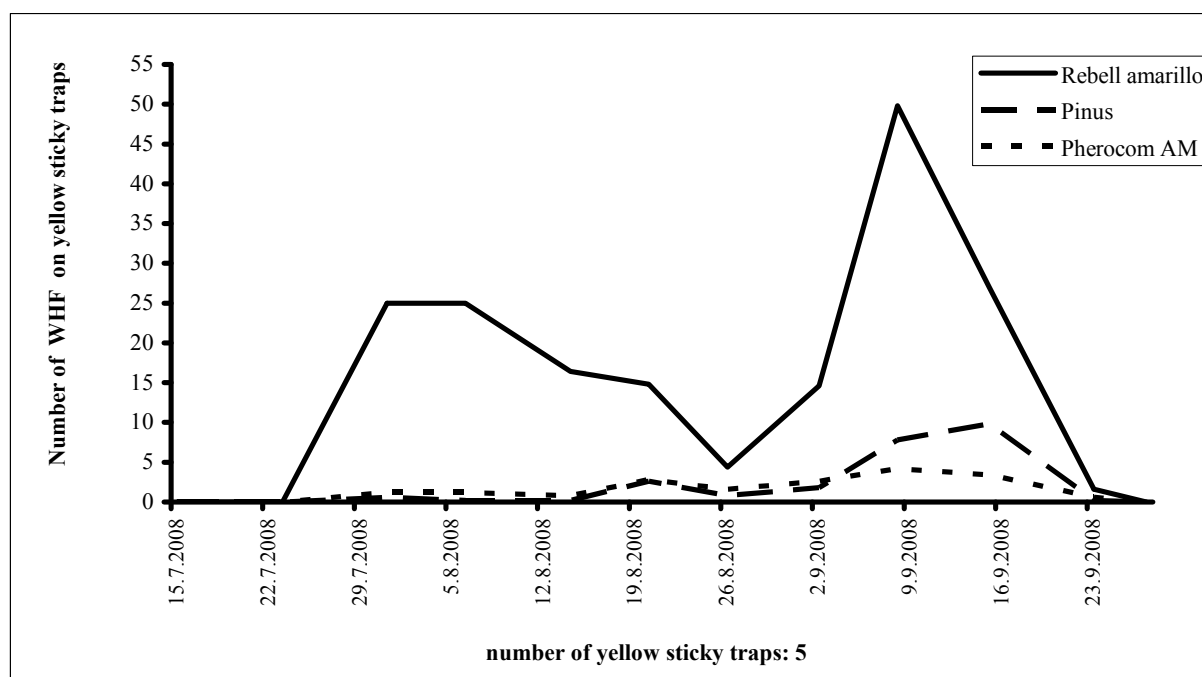
Preglednica 1: Trgovska imena pripravkov in aktivnih snovi, datumi škropljenj in mesta tretiranja pripravkov, uporabljenih v poskusu na lokacija Razvanje v letu 2008.

Table 1: Trade names and active ingredients, dates and places of spraying used in Razvanje orchard in year 2008.

Št. obr.	Kemični pripravek	Aktivna snov	Formulacija	Odmerek		Datum
				g, ml, a.s./ha	kg, l prip./ha	škroplj.
1.	GF - 120	Spinosad 0,24 g/l Hidroliziran protein 264 g/l	CB	0,288 316,8	1,2	31. 7. 14. 8. 26. 8.
2.	Perfekthion	Dimetoat 400 g/l	EC	300	0,75	31. 7. 14. 8. 26. 8.
3.	Calypso SC 480	Tiaklopid 480 g/l	SC	144	0,3	31. 7. 14. 8. 26. 8.
4.	Kontrola	-	-	-	-	-

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V nasadu oreha v Razvanju pri Mariboru smo prve muhe ujeli 31. julija. Ugotovljena sta bila dva vrha leta: 31. julija večji in manjši 20. avgusta. Zadnje muhe smo ujeli 23. septembra, kar je 11 dni kasneje kot v letu 2007 v istem nasadu (Grafikon 1)

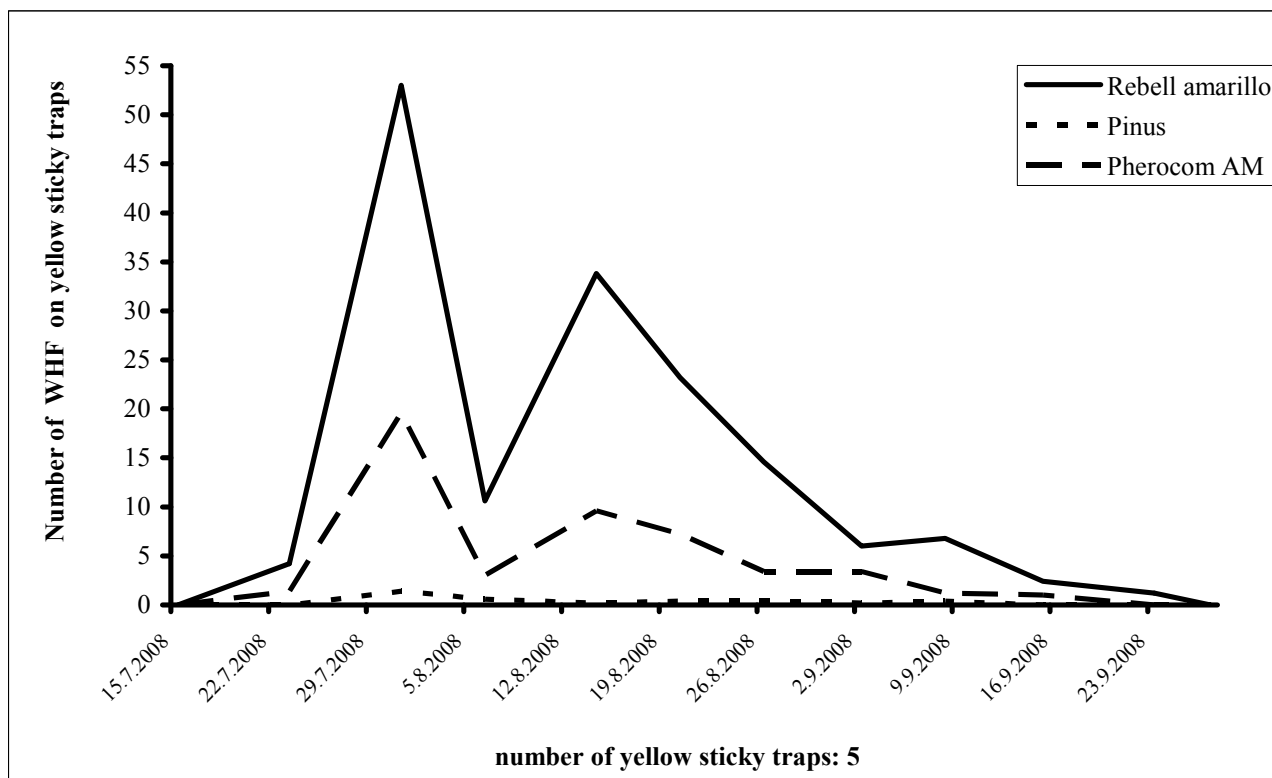


Slika 1: Sezonska dinamika leta orehove na rumenih ploščah treh proizvajalcev v nasadu oreha v Razvanje pri Mariboru v letu 2008

Figure 1: Survey of walnut husk fly (*Rhagoletis completa*) on three types of yellow sticky plates in Razvanje near Maribor in year 2008

V nasadu oreha v Mariboru se je orehova muha pojavljala v nasadu med 31. julijem in 23. septembrom. Ugotovljena sta bila dva vrha: prvi - manjši 31. julija in večji 8. septembra. Zadnje muhe smo ujeli 23. septembra.

Kumulativno se je v nasadu oreha v Mariboru ujelo trikrat več imagov orehove muhe, kot pri ostalih dveh tipih rumenih plošč. Na rumene plošče Rebell® amarillo se je ujelo statistično značilno več muh, kot na rumene plošče Pherocom AM in Pinus, med katerima ni bilo statistično značilnih razlik.



Slika 2: Sezonska dinamika leta orehove na rumenih ploščah treh proizvajalcev v nasadu oreha v Razvanju pri Mariboru v letu 2008

Figure 2: Survey of walnut husk fly (*Rhagoletis completa*) on three types of yellow sticky plates in Razvanje near Maribor in year 2008

V nasadu oreha v Razvanju pri Mariboru smo prve muhe ujeli 23. julija. Ugotovljena sta bila dva vrha leta: 31. julija večji in manjši 20. avgusta. Zadnje muhe smo ujeli 23. septembra, kar je 11 dni kasneje kot v letu 2007 v istem nasadu (Slika 2).

Ulovi orehove muhe so bili na obeh lokacijah največji na rumene plošče Rebell® amarillo. V nasadu Razvanje pri Mariboru se je na rumene plošče Rebell® amarillo ujelo statistično značilno kumulativno več muh kot na plošče Pinus in Pherocom AM. Prav tako so bile statistično značilne razlike med kumulativnim ulovom orehovitih muh na rumenih ploščah Pinus in Pherocom AM.

V kontroli neškropljeno je bilo na sorti 'Franquette' 37,4% plodov s popolnoma poškodovano lupino (preglednica 2), na sorti 'Novosadski kasni' pa 25,2%. Napad v kontroli je bil precej manjši kot v škropilnem poskusu zatiranja orehove muhe v letu 2007 na isti lokaciji, kjer je bil sorti 'Franquette' 51,35% in na sorti 'Novosadski kasni' 54,31% (Miklavc in sod., 2008), ter v škropilnem poskusu zatiranja orehove muhe v letu 2006 v Mariboru, kjer je bil napad v kontroli 57,74% (Solar in sod., 2007).

Na sorti 'Franquette' je bil največji delež plodov s popolnoma zdravo lupino v kontroli neškropljeno (27,4%) in pri pripravku GF- 120 (27,0%). V kontroli neškropljeno je bilo statistično značilno več plodov s popolnoma poškodovano lupino, kot na drevesih tretiranih s pripravkom Calypso. V ostalih razredih (I, II in III) ni bilo statistično značilnih razlik.

Na sorti 'Novosadski kasni' je bil v kontroli neškropljeno delež plodov s popolnoma zdravo lupino statistično značilno manjši kot pri pripravku Calypso SC 480 (30,8% napram 17,6%). V ostalih razredih (II, III, IV) ni bilo statistično značilnih razlik.

Preglednica 2: Rezultati delovanja insekticidov proti orehovi muhi (*Rhagoletis completa* Cresson) v letu 2008 pri sorti 'Franquette'

Table 2: Results of testing insecticides against walnut hark fly (*Rhagoletis completa* Cresson) in year 2008, variety 'Franquette'

Kemični pripravek	Poškodovana lupina (razred/delež površine)			
	I (0)	II (do 1/3)	III (1/3 do 3/3)	IV (3/3)
1. GF-120	27,0 A	27,3 A	25,1 A	24,0 AB
2. PERFEKTHION	25,7 A	22,5 A	21,0 A	21,8 AB
3. CALYPSO SC 480	19,9 A	23,7 A	25,9 A	16,8 A
4. Kontrola – neškropljeno	27,4 A	26,5 A	27,9 A	37,4 B

Preglednica 3: Rezultati delovanja insekticidov proti orehovi muhi (*Rhagoletis completa* Cresson) v letu 2008 pri sorti 'Novosadski kasni'

Table 3: Results of testing insecticides against walnut hark fly (*Rhagoletis completa* Cresson) in year 2008, variety 'Novosadski kasni'

Kemični pripravek	Poškodovana lupina (razred/delež površine)			
	I (0)	II (do 1/3)	III (1/3 do 3/3)	V (3/3)
1. GF-120	24,9 AB	22,4 A	29,3 A	28,7 B
2. PERFEKTHION	26,6 AB	28,1 A	22,7 A	22,7 A
3. CALYPSO SC 480	30,8 A	29,3 A	20,2 A	23,3 A
4. Kontrola – neškropljeno	17,6 B	20,2 A	27,8 A	25,2 AB

4 SKLEPI

Orehova muha je sorazmerno nov škodljivec na navadnem orehu v severovzhodni Sloveniji, saj smo jo prvič odkrili šele v letu 2003. Škoda, ki so jo ugotavljali v preteklih letih je pogosto preseгла 50%, na nekaterih sortah pa celo do 80%.

Rumene plošče Rebell amarilo so se pokazale kot bolj atraktivne in učinkovite pri spremljanju sezonske dinamike, kot rumene plošče Pinus in Pherocom AM. To potrjujejo tudi statistično značilne razlike med rumenimi ploščami Rebell amarilo in Pinus in Pherocom AM v kumulativnem ulovu orehove muhe v obeh nasadih oreha.

Prikazani rezultati preizkušanja insekticidov kažejo, da je kemično zatiranje orehove muhe lahko učinkovito, čeprav rezultati niso identični rezultatom, kjer smo v preteklih poskusih dodajali hidroliziran protein NU LURE kot atraktant.

V prihodnje bo potrebno presledke med škropljenji po začetku odlaganja jajčec skrajšati na 7 dni in v tem obdobju opraviti največ 3 škropljenja. V praksi bo izbira pripravka odvisna od možnosti za uradno registracijo v Sloveniji.

5 LITERATURA

- Seljak, G., Žežlina, I. 1999. Appearance and distribution of walnut husk fly (*Rhagoletis completa* Cresson) in Slovenia (in SLO). V: Maček, Jože (Ed.). Lectures and papers of the 4th Slovenian Conference on Plant Protection, *Portorož (Slo)*, March 3 - 4, Ljubljana. Plant Protection Society of Slovenia, p. 231-238.
- Solar, A., Miklavc, J., Seljak, G., Mešl, M., Matis, G., Matko, B., Pliberšek, T. 2007. First experiences with control of walnut husk fly (*Rhagoletis completa* Cresson) in northeast part of Slovenia (in SLO). V: MAČEK, Jože (Ed.). Lectures and papers of the 8th Slovenian Conference on Plant Protection, *Radenci*, March 6 - 7. Ljubljana. Plant Protection Society of Slovenia, p. 220-224.
- Miklavc, J., Mešl, M., Matko, B., Solar, A. 2008. Experiences with control of walnut husk fly (*Rhagoletis completa* Cresson) in NE part of Slovenia (in SLO). V: Hudina, Metka (Ed.). Proceedings of 2nd Slovene fruit Growing Congress *Krško*, Jan 31 – Feb 2. Ljubljana. Strokovno sadjarsko društvo Slovenije, p. 337-343.

BELLIS – IZKUŠNJE UPORABE IZ PRAKSE

Aleš GROBIN¹

¹METROB d.o.o., Začret

IZVLEČEK

Skladiščne bolezni jablan in hrušk so povzročitelj gospodarsko pomembnih izgub pridelka v hladilnicah. Za zmanjšanje teh izgub so slovenski sadjarji pred letom 2007 med ostalim lahko uporabljali tudi fitofarmaceutske pripravke z aktivno snovjo tolifluanid. Bistvena prednost tovrstnih pripravkov je bila kratka karenca. Po prenehanju dovoljenja za njihovo uporabo v Sloveniji nismo imeli ustreznega nadomestila. Vrzal je v letu 2007 nadomestil nov pripravek s kombinacijo aktivnih snovi piraklostrobin in boskalid, Bellis. Pripravek se uporablja za končna tretiranja jablan in hrušk. Dovoljenje za uporabo v Sloveniji je bilo zaradi vrzeli na tržišču in potrebah po nadomestitvi predhodnih izdano zelo hitro. Izkušnje z uporabo pripravka so imeli le sadjarji v Italiji. Ob uvedbi pripravka na trg je bila zato izkazana izrazita potreba po potrditvi proizvajalčevih praktičnih izkušenj v slovenski praksi. V letu 2007 smo zato izvedli obsežno testiranje pripravka Bellis v podjetju Evrosad d.o.o. Poskus je zajemal 18 ha sadovnjakov in tri, pri nas gospodarsko najpomembnejše kultivarje jabolk, jonagold, zlati delišes in idared. Izvedeni sta bili dve tretirani z odmerkom 0,8 kg/ha ob koncu rastne dobe. Jabolka kontrolne variante so bila tretirana v istih terminih s pripravkom na osnovi učinkovine kaptan. Vsa jabolka so bila skladiščena v istih skladiščnih razmerah, ločeno po sortah, v več hladilnih komorah z uporabo Smart Fresh. Izvrednotenje poskusa smo izvedli teden dni po odpiranju komor konec meseca aprila in junija. Ocenjenih je bilo po 400 plodov vsakega obravnavanja. Ocena je vsebovala delež gospodarsko najpomembnejših skladiščnih bolezni na plodovih. Ugotovili smo pozitiven doprinos tretiranja z Bellisom v primerjavi s kontrolo. Pozitiven vpliv tretiranja opravičuje finančna vlaganja v varstvo jabolk s pripravkom Bellis.

Ključne besede: boskalid, piraklostrobin, skladiščne bolezni.

ABSTRACT

BELLIS – PRACTICAL EXPERIENCES OF USE

Storage diseases of apples and pears are the cause of economically important losses of the yield in cold stores. In order to minimise these losses before the year 2007, Slovenian fruit producers were able to, among others, use plant protection preparations containing the active substance tolylfluanid. The essential advantage of these preparations was a short withdrawal period. However, after the authorisation for their use was revoked, there was no appropriate substitute. The gap that had been left in 2007 was filled by a new preparation, Bellis, containing a combination of the active substances pyraclostrobin and boscalid. This preparation is used for the end treatment of apples and pears. Authorisation for use in Slovenia was issued very quickly, not only because of the market gap but also because of the need to replace the previous products. Only fruit producers in Italy had had experience with the use of this preparation. Therefore, when the preparation was introduced on the market there was a distinctive need to confirm producer's practical experiences in the Slovenian practice. Therefore, extensive testing of the Bellis preparation was carried out in

¹ univ. dipl. inž. agr., Začret 20a, SI-3202 Ljubečna

2007 in the company Evrosad d.o.o. The experiment included 18 ha of the orchards, and included three of Slovenia's most important apple cultivars, Jonagold, Golden Delicious and Idared. Two treatments with a dosage of 0.8 kg/ha were carried out at the end of the growing season. Apples of the control variant were treated in the same periods with a preparation based on the active substance captan. All apples were stored under the same conditions, separated by variety in several cold chambers, with the use of Smart Fresh. We evaluated the experiment one week after the opening of the chambers, at the end of May and June. 400 fruits of each treatment were evaluated. The assessment included a portion of the most economically significant storage diseases of fruits. We have established a positive contribution of Bellis treatment compared to the control. The positive influence of the treatment justifies financial investments in the apple tree protection using the Bellis preparation.

Key words: boscalyd, pyraclostrobin, storage diseases.

1 UVOD

Sadje je pri skladiščenju podvrženo okužbam različnih boleznih, večinoma glivičnim. Največ težav povzroča navadna sadna gniloba (*Monilinia fructigena*), skladiščni škrlup (*Venturia inaequalis*), grenka gniloba (*Gleosporium album*), siva plesen (*Botrytis cinerea*), alternarijska gniloba (*Alternaria* spp.), čopičasta plesen (*Penicillium* spp.), fuzarijska gniloba peščišča (*Fusarium* spp.), *Phytophthora* spp. Sajavost jabolk (*Phyllachora pomigena*) in mušja pegavost jabolk (*Schizothyrium pomi*) se pojavita že v nasadu, posebej ob dolgotrajnejšem vlažnem vremenu.

V zadnjih 15 letih so v Sloveniji zgradili hladilne kapacitete, ki omogočajo oskrbo trga skozi vso sezono s sadjem, predvsem z jabolki. Za večmesečno skladiščenje je potrebno pridelati prvovrstna jabolka, ki so sposobna dolgo zdržati na trgovski polici.

V zadnjih letih je velik problem predstavljal skladiščni škrlup, ki se je pojavljal predvsem v vlažnih jesenih in presenetil marsikaterega sadjarja po odprtju hladilnice. Vsakoletne probleme povzroča sadna gniloba (*Monilinia fructigena*) in pri nekaterih sortah tudi grenka gniloba (*Gleosporium album*). Da je kala v skladišču čim manj je potrebno jabolka ustrezno zavarovati že v nasadu. Vsi sadjarji poznajo rek »hladilnica ni bolnica«, zato je potrebno skladiščiti le sadje primerne kakovosti.

S škropljenji v poletnih mesecih preprečujemo razvoj glavnih glivičnih skladiščnih boleznih. Zadnja škropljenja prilagajamo terminom obiranja, da zagotovimo iztek karence pred obiranjem. Fungicidi na osnovi tirama, kaptana in trifloksistrobina imajo daljšo karencu in se uporabljamo prej. Za zadnja škropljenja pa uporabimo sredstvo s kratko karencu. V preteklosti je bil to pripravek na osnovi tulilfluorida, v zadnjih dveh letih pa sredstvo na osnovi aktivnih snovi piraklostrobin in boskalid s trgovskim imenom Bellis. V referatu so predstavljene dosedanje izkušnje z uporabo Bellisa v Sloveniji.

2 MATERIALI IN METODE

Posebno pozornost je potrebno nameniti varstvu plodov v mokrih jesenih. V vlažnih jesenih z obilico padavin se dogaja, da je fitofarmacevtsko sredstvo sprano in se plodovi skladiščijo nezavarovani. Kljub temu, da glive na plodovih niso vidne, so na njih in se razvijejo v hladilnici po odprtju le-te, zato je pomembno, da sadje zavarujemo pred skladiščnimi boleznimi že v nasadu. Sadje se zaradi optimalne kakovosti in barve obira večkrat, ponavadi v 7 do 10 dnevni presledkih. Pripravki s kratko karencu omogočajo varstvo plodov tudi med obiranjem. To je pomembno predvsem sedaj, ko potapljanje plodov pred skladiščenjem v hladilnicah ni več dovoljeno, tretiranje plodov z metodo Smart Fresh pa ravno tako ne zatre gliv na plodovih.

V zadnjih dveh letih je bilo mogoče sadje v takšnih razmerah ustrezno zavarovati le s pripravkom Bellis, ki ima edini kratko sedemdnevno karenco.

Bellis® je kombiniran fungicid za zatiranje bolezni na jablanah in hruškah.

Vsebuje dve učinkovini, boskalid in piraklostrobin.

Boskalid deluje sistemsko, po nanosu se v rastlini razporedi v 48 urah. Preprečuje klitje spor, formiranje apresorijev in sporulacijo.

Aktivna snov piraklostrobin pripada skupini strobilurinov. Deluje mezosistemsko. Po tretiranju se premesti v rastlinsko tkivo in se po njem lokalno porazdeli. V plinasti obliki se širi tudi skozi list. Tako enakomerno varuje vse njene zelene dele.

V povprečju ostane sredstvo na rastlini 8 do 12 dni, kolikor so tudi priporočeni presledki med tretiranjimi. Sredstvo vzpodbuja rastlino k tvorbi lastnega obrambnega sistema in bujnejši obarvanosti listja, zato priporočamo večkratno tretiranje, vendar ne več kot trikrat v eni rastni sezoni.

Bellis se uporablja na jablanah preventivno za zatiranje jablanovega škrlupa (*Venturia inaequalis*) in jablanove pepelovke (*Podosphaera leucotricha*), alternarijske pegavosti (*Alternaria* spp.), grenke gnilobe sadja (*Gleosporium* spp.) in čopičaste plesni (*Penicillium* spp.), sadne gnilobe (*Monilia* spp.) in sive plesni (*Botrytis cinerea*) v odmerku 0,8kg/ha

Na hruškah za zatiranje hruševega škrlupa (*Venturia pirina*), rjave hruševe pegavosti (*Stemphylium vesicarium*), grenke gnilobe (*Gleosporium* spp.), alternarijske pegavosti (*Alternaria* spp.), čopičaste plesni (*Penicillium* spp.), sadne gnilobe (*Monilia* spp.) in sive plesni (*Botrytis cinerea*) v odmerku 0,8 kg/ha.

Tretiramo v presledkih 7 do 12 dni. Tretiranje proti skladiščnim boleznim opravimo zaporedoma dvakrat. Zadnje tretiranje opravimo 7 dni pred obiranjem.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Ker so slovenske oblasti dovolile uporabo Bellis® med prvimi, smo v letu 2007 izvedli testiranje proizvoda v podjetju EVROSAD d.o.o. V poskus so bile vključene tri sorte jabolk, zlati delišes, jonagold in idared v skupni velikosti cca. 15 ha. Kontrolna parcela je vsebovala iste sorte. V poskusu sta bili izvedeni dve tretiranjima, prvo 27. 08. 2007, drugo pa 05. 09. 2007. Poskusne parcele so bile tretirane s pripravkom Bellis v odmerku 0,8 kg/ha. Kontrolne parcele so bile tretirane v istem terminu s pripravkom na osnovi kaptana, v odmerku 2,25 kg/ha.

Vsa jabolka so bila skladiščena v istih skladiščnih razmerah, ločeno po sortah, v več hladilnih komorah z uporabo Smart Fresh. Izvrednotenje poskusa smo izvedli teden dni po odpiranju celic. Sorti jonagold in zlati delišes smo izvrednotili 28. 04. 2008, sorto idared pa 24. 06. 2008. Iz naključno izbranih box palet smo ocenili po 400 plodov vsakega obravnavanja. Ocena je vsebovala delež gospodarsko najpomembnejših skladiščnih bolezni na plodovih. Najpogosteje se je pojavila grenka gniloba (*Gleosporium album*) in navadna sadna gniloba (*Monilinia fructigena*).

Zabeležili smo naslednje rezultate tretiranja z Bellis® v primerjavi s kontrolo tretirano s kaptanom.

Preglednica 1: Primerjava rezultatov obravnavanj

Table 1: Comparison results of treatment

Sorta	Kalo v kontroli (%)	Kalo v Bellis® tretirani varianti (%)	Razlika v učinkovitosti med obravnavanjema (%)
Jonagold	3,25	1	2,25%
Zlati delišes	1	0	1%
Idared	4	1,75	2,25%

Iz preglednice 1 je razvidno, da je škropljenje z pripravkom Bellis dalo boljše rezultate učinkovitosti pri vseh sortah jabolk, od kontrole tretirane s kaptanom.

4 SKLEPI

Iz rezultatov makro poskusa je razviden pozitiven doprinos tretiranja z Bellisom v primerjavi s kontrolo. Pozitiven vpliv tretiranja opravičuje finančna vlaganja v varstvo jabolk s pripravkom Bellis. Tretiranje jabolk v nasadu s pripravkom Bellis je zmanjšalo izgubo jabolk zaradi skladiščnih bolezni za 2,5% pri sortah idared in jonagold in 1% pri zlatem delišesu. Če to preračunamo v kilograme jabolk ugotovimo, da je doprinos škropljenja z Bellisom pri preračunu na ha (pridelek 40 ton jabolk) 900 kg več jabolk po izskladiščenju iz hladilnice pri sortah idared in jonagold in 400 kg več pri zlatem delišesu.

REZULTATI PREIZKUŠANJA INSEKTICIDOV PROTI AMERIŠKEMU ŠKRŽATKU (*Scaphoideus titanus* Ball) V LETU 2008

Miro MEŠL¹, Jože MIKLAVC², Boštjan MATKO³

^{1,2,3}KGZS – Kmetijsko gozdarski zavod Maribor

IZVLEČEK

V letu 2008 smo v vinogradu sorte 'laški rizling' preizkušali delovanje insekticidov na ameriškega škržatka *Scaphoideus titanus* Ball. Preizkušali smo insekticide Steward (indoksakarb) in Reldan 22 EC (klorpirifos-metil) v različnih terminih in kombinacijah. Populacijo ameriškega škržata smo spremljali z rumenimi lepljivimi ploščami tipa Trece – Pherocon AM 22 x 18 cm. Rezultati so pokazali, da škropljenje v danem terminu ni statistično značilno zmanjšalo populacije ameriškega škržatka.

Ključne besede; Ameriški škržatek, *Scaphoideus titanus*, insekticid, rumena lepljiva plošča

ABSTRACT

RESULTS OF INSECTICIDES TESTING AGAINST LEAFHOPPER *Scaphoideus titanus* Ball IN THE YEAR 2008

In year 2008 we tested insecticides against leafhopper *Scaphoideus titanus* Ball. The trial was done in the vineyard of the variety 'Italian Riesling'. We tested insecticides Steward (indoxacarb) and Reldan 22 EC (Chlorpyrifos-methyl) in different periods and combinations. We track the population of *Scaphoideus titanus* Ball with yellow sticky plates of type Trece - Pherocon AM 22 x 18 cm. Results showed, that spraying in a given period has not statistically significantly reduced the population of leafhopper.

Key words: leafhopper, *Scaphoideus titanus*, insecticide, yellow sticky plate

1 UVOD

Ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus* Ball) je v primorskih vinogradih splošno razširjen, v zadnjih letih pa se je močno razširil tudi v podravski in posavski vinorodni deželi. Neposredno škržatek ne povzroča nobene škode, pač pa je zelo učinkovit prenašalec zlate trsne rumenice (povzročitelj Grapevine flavescence doree phytoplasma - FD). V vinogradih, kjer se pojavlja zlata trsna rumenica, je eden od ukrepov tudi zatiranje ameriškega škržatka z zato registriranimi insekticidi.

2 MATERIALI IN METODE DE LA

Poskus smo izvedli na lokaciji Nebova pri Mariboru, v 33 let starem vinogradu sorte laški rizling. Populacijo vseh razvojnih stadijev ameriškega škržatka v poskusnem vinogradu smo spremljali z rumenimi lepljivimi ploščami tipa Trece – Pherocon AM, velikosti 22 x 18 cm. V vsakem postopku smo izobesili po 4 rumene lepljive plošče. Poskus z izbranimi insekticidi

¹ univ. dipl. inž. agr., Vinarska 14, SI-2000 Maribor

² mag. agr. znan., prav tam

³ univ. dipl. inž., agr., prav tam

smo izvedli v priporočenih terminih iz tehnoloških navodil za integrirano pridelavo grozdja. Škropili smo s traktorskim nošenim pršilnikom Zupan ob porabi vode 700 l/ha.

Preglednica 1: Splošni podatki o poskusu

Kultura: Vinska trta	Sorta: 'laški rizling'	Latinsko ime: <i>Vitis vinifera</i>
Velikost vinograda: 0,46 ha	Velikost poskusa: 0,46 ar	Postavitev poskusa: Bločni poskus
Velikost parcel: 10,4 ar 13 ar (kontrola)	Število ponovitev: 4 rumene plošče	Starost vinograda: 33 let

Preglednica 2: Uporabljeni kemični pripravki

Št. obr.	Kemični pripravki	Aktivne Snovi	Formulacija	Odmerki		Datumi škropljenj
				g, ml, a.s./ha	kg, l prip./ha	
1.	Steward I	Indoksakarb	WG	50 g	0,15	2. 7.
	Reldan 22 EC II	Klorpirifos-metil	EC	225	1,0	17. 7.
2.	Reldan 22 EC	Klorpirifos-metil	EC	225	1,0	2. 7.
3.	Reldan 22 EC I, II	Klorpirifos-metil	EC	225	1,0	2. 7., 17. 7.
4	Kontrola - neškropljeno					

Preglednica 3: Podatki o izvajanju škropljenj

	1. škrop.	2. škrop.
Št. obravnavanja	1,2,3	1,3
Datum škropljenja	2. 7.	17. 7.
Stadij razvoja rastlin	debeljenje jagod	debeljenje jagod
Temperatura	26,4 °C	26,1 °C
Količina padavin med posameznimi škropljenji	25,6 mm (do 2. šk.)	-
Št. dni med posameznimi škropljenji	15 dni (do 2. šk.)	-
Količina škropilne brozge	700 l/ha	700 l/ha
Vrsta in tip škropilnice	Traktorska nošena – Zupan	

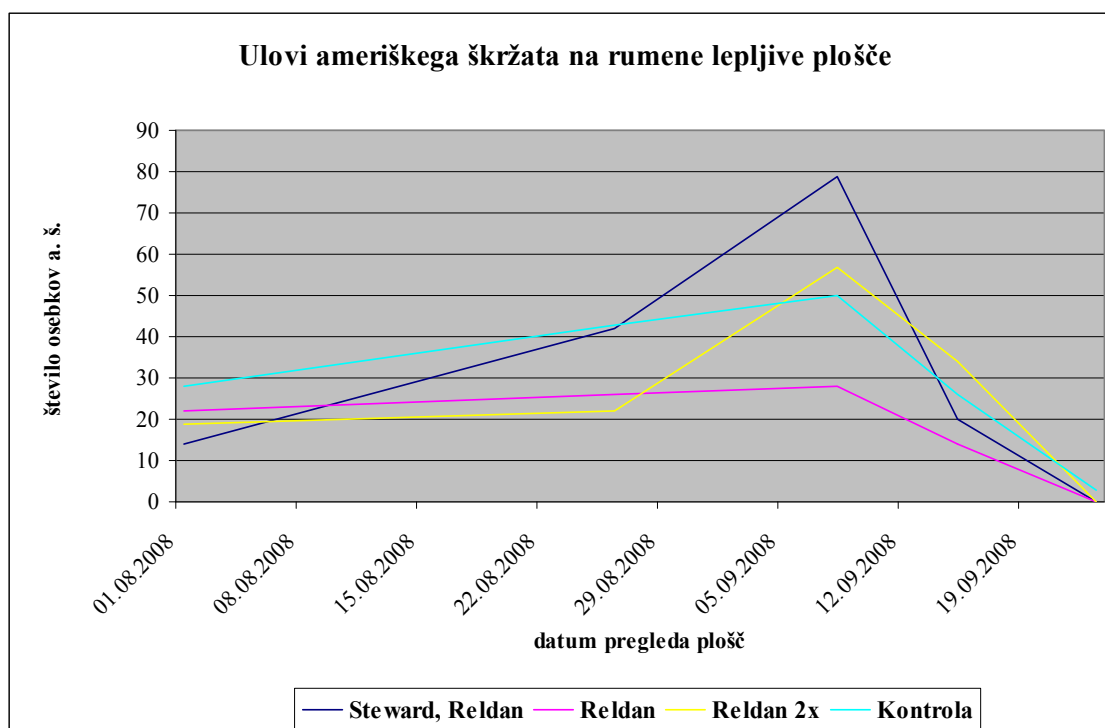
Vrsta in tip šobe	80 - SF-02
Tlak	10 bar

3 REZULTATI

Rumene lepljive plošče smo pregledali dne 1. in 26. avgusta ter 15. in 23. septembra. Število ujetih osebkov ameriškega škržatka ter statistično primerjavo prikazujemo v preglednici 4. Za statistično analizo smo uporabili Duncanov test za izračun statistično značilnih razlik. V grafikonu 1 je prikazan ulov osebkov ameriškega škržatka po datumih pregleda rumenih lepljivih plošč. Največjo učinkovitost pri ocenjevanju dne 1. avgusta je pokazal postopek 1 (Steward, Reldan) in sicer 57,1%, medtem ko sta postopka 2 (Reldan) in 3 (Reldan 2x) dosegla učinkovitosti 21,4% in 32,1%.

Preglednica 4: Rezultati ulova ameriškega škržata na rumene plošče

Kemični pripravek oz. »program«	Povprečno št. ameriških škržatov/ rumeno ploščo in statistična primerjava				
	1. 8.	26. 8.	8. 9.	15. 9.	23. 9.
1. Steward I, Reldan II	3,0 a	10,5 a	19,75	5	0
2. Reldan	5,5 ab	6,5 a	7	3,5	0
3. Reldan 2 X	4,75 ab	5,5 a	14,25	8,5	0
4. Kontrola	7,0 b	10,75 a	12,5	6,5	0,75



Slika 1: Rezultati ulova ameriškega škržata na rumene plošče po posameznih datumih kontrole

4 SKLEPI

- Na podlagi enoletnih rezultatov preizkušanj insekticidov lahko trdimo, da je učinkovitost pripravkov premajhna, saj je šlo za majhno populacijo ameriškega škržatka
- Pojavlja se vprašanje ali se čas uporabe insekticidov proti ameriškemu škržatu ujema s časom zatiranja grozdnih sukačev v SV Sloveniji
- Po našem mnenju bi morali tretiranje opraviti v začetku avgusta
- V poskusu nismo preizkušali sintetičnih piretroidov, ki so dovoljeni po tehnoloških navodilih za zatiranje ameriškega škržatka
- Po naših izkušnjah bi lahko uporaba piretroidov povzročila velike težave s pršicami šiškaričami (akarinozo, erinozo) in prelkami (rdečo sadno pršico) v pomladi naslednje leto, še posebej v primeru hladnega vremena
- V SV Sloveniji so se v preteklih 15 letih za zatiranje grozdnih sukačev uporabljali predvsem pripravki iz skupine organskih fosforjevih insekticidov, zato menimo, da bi bilo potrebno v praktično zatiranje ameriškega škržatka vključiti pripravke iz drugih skupin s čim ožjim spektrom delovanja.
- V Avstriji in Nemčiji je registriran pripravek Reldan 2E z enakim deležem aktivne snovi kot v Reldanu 22EC, vendar v odmerku 2 litra/ha pri enakem MRL-ju, kot v Sloveniji.
- V Avstriji so v letu 2007 na območju velikega naleta ameriškega škržatka priporočali uporabo pripravka na osnovi a.s. imidakloprid. V Italiji je za ta namen med drugimi pripravki registriran pripravek na osnovi a.s. tiametoksam.

5 VIRI

Tehnološka navodila za integrirano pridelavo grozdja: leto 2008/ (avtorji Tomaž Džuban...*(et al.)*); uredil Tomaž Džuban). – Ljubljana: Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, 2008

ZAGOTAVLJANJE TRAJNOSTNE RABE FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV ZA ZATIRANJE PEPELOVKE ALI OIDIJA VINSKE TRTE (*Uncinula necator*)

Marko KRAMER¹, Damjan FINŠGAR²

¹METROB d.o.o.

²BASF Slovenija. d.o.o.

IZVLEČEK

Ohranjanje in širjenje vrst sta osnovni biotični zakonitosti narave. V procesu intenziviranja pridelave hrane, potrebne zaradi zmanjšanja razpoložljivih pridelovalnih zemljišč in večanju človeške populacije ter zahtev po znižanju pridelovalnih stroškov, mora pridelovalec pridelati večje količine kvalitetnih pridelkov. Z optimiranjem rastnih razmer gojenim rastlinam se izboljšujejo tudi razmere za razmnoževanje patogenih organizmov. Tudi ob upoštevanju vseh agrotehničnih ukrepov intenzivna pridelava ni mogoča brez uporabe fitofarmaceutskih sredstev (FFS). Pepelovko ali oidij vinske trte (*Uncinula necator*) uvrščamo v družino Erysiphaceae, ki vsebuje celo vrsto zelo pomembnih gliv, znanih ektoparazitov številnih gojenih rastlin. Pepelovka ali oidij, kot jo nekateri imenujejo po nespolnem stadiju glive povzročiteljice (*Oidium tuckeri*) je v naših razmerah druga najpomembnejša glivična bolezen vinske trte, na Primorskem pa pogosto najpomembnejša. Poznavanje razvojnega kroga glive je osnova za njeno zatiranje. Gliva se v ugodnih razmerah zelo hitro razmnožuje in lahko ima v rastni sezoni več "generacij". Nevarnost pojava rezistence na FFS je zato velika. Povečana je zlasti tedaj, ko pridelovalec ne upošteva, ponavadi zaradi neznanja, navzkrižne rezistence med aktivnimi snovmi (AS) in jih uporablja mimo FRAC pravil. Pogosto se dogaja, da v škropilnem programu menjuje pripravke znotraj skupine v kateri so AS z navzkrižno rezistenco. Program varstva vinske trte pred oidijem podjetja BASF SE temelji na antirezistentni strategiji rabe FFS. V programu so FFS s štirimi AS iz različnih skupin po FRAC-u. To so Kumulus DF (žveplo), Cabrio Top (strobilurin), Vivando (benzofenon) in Collis (karboksianilid). Predstavljen je program zatiranja oidija s temi sredstvi s ciljem optimalnega varstva in sprejemljivih stroškov.

Ključne besede: aktivna snov, BASF SE, FRAC, navzkrižna rezistenca, oidij vinske trte

ABSTRACT

PROVIDING SUSTAINABLE USE OF PLANT PROTECTION PRODUCTS TO COMBAT GRAPEVINE POWDERY MILDEW (*Uncinula necator*)

The preservation of and spreading of species are basic biological rules. In the process of intensifying food production, required because of reduced available production areas, increased human population, and also demands to lower production costs, growers must produce greater quantities of quality products. However, with the optimisation of growth conditions of cultivated plants, the reproduction conditions of pathogenic organisms improve as well. Even when considering all available geotechnical measures, such intensive production is impossible without the use of plant protection products. Grapevine powdery mildew (*Uncinula necator*) is placed in the family of Erysiphaceae, which contains a whole

¹ univ. dipl. inž. agr., Začret 20a, SI-3202 Ljubecna

² univ. dipl. inž. agr., Bevkova 16, SI-2250 Ptuj

variety of very important fungi, known ectoparasites of numerous cultivated plants. Grapevine powdery mildew (*Uncinula necator*) is the second most significant fungus disease of grapevines in our region or growing conditions, whereas in Primorska, it is often the most significant one. Knowledge of the fungus's biology is the basis for its control. The fungus can reproduce very quickly under favourable conditions and can have more "generations" in a growing season. Therefore, the danger to develop resistance against plant protection products is great. It is particularly high when the producer, mostly because of the lack of knowledge, does not consider the cross-resistance between active substances, and uses them without following the FRAC rules. It often occurs that, in their spray programme, producers change preparations within a group also containing active substances with the cross-resistance. The protection programme of BASF SE against grapevine powdery mildew is based on the anti-resistant strategy of the use of plant protection products. Included in the programme are plant protection products with four active substances of different groups under the FRAC. These are Kumulus DF (sulphur), Cabrio Top (strobilurin), Vivando (benzophenone) and Collis (carboxyanilid). The programme to combat powdery mildew with these means is presented, with the objective of optimal protection and acceptable costs.

Key words: active substance, BASF SE, cross-resistance, FRAC, grapevine powdery mildew

1 UVOD

Z intenzivno pridelavo gojenih rastlin, tudi pri vinski trti, kjer optimiramo ugodne razmere za čim boljši in čim večji pridelek, se ob ugodnih razmerah preras množijo tudi patogeni organizmi, kateri nam lahko v različnih razmerah bolj ali manj povzročajo gospodarsko škodo. Za ohranitev pridelka je poleg dobro opravljenih agrotehničnih opravil potrebna tudi uporaba fitofarmaceutskih sredstev.

S prekomerno in nepravilno uporabo fitofarmaceutskih sredstev se lahko pojavi odpornost patogena na določeno aktivno snov, oziroma na celo skupino aktivnih snovi, ki imajo enako ali podobno delovanje na patogena. V izogib temu je nastalo združenje FRAC – Fungicide Resistance Action Commite, ki na osnovi prepoznanih sorodnosti aktivnih snovi daje priporočila za pravilno uporabo. V organizaciji so podjetja, ki proizvajajo sredstva za varstvo rastlin, katerim skupni interes je ohraniti aktivno snov čim dalj časa učinkovito.

Vemo, da je pridobivanje novih učinkovin, ki so ekotoksikološko in učinkovitostno zadovoljive, zelo drago in dolgotrajno. Pri gojenju nekaterih kultur se že pojavljajo težave pri pomanjkanju ustreznih učinkovin za normalno intenzivno pridelavo, zato je interes podjetij za pravilno uporabo obstoječih aktivnih snovi toliko večji.

Za varstvo vinske trte pred oidijem imamo na voljo še kar nekaj aktivnih snovi iz različnih skupin in z menjavanjem le teh lahko zagotavljamo trajnostno rabo in učinkovito sestavimo dober program varstva vinske trte (Pevc in sod., 2008)

2 METODE IN MATERIALI

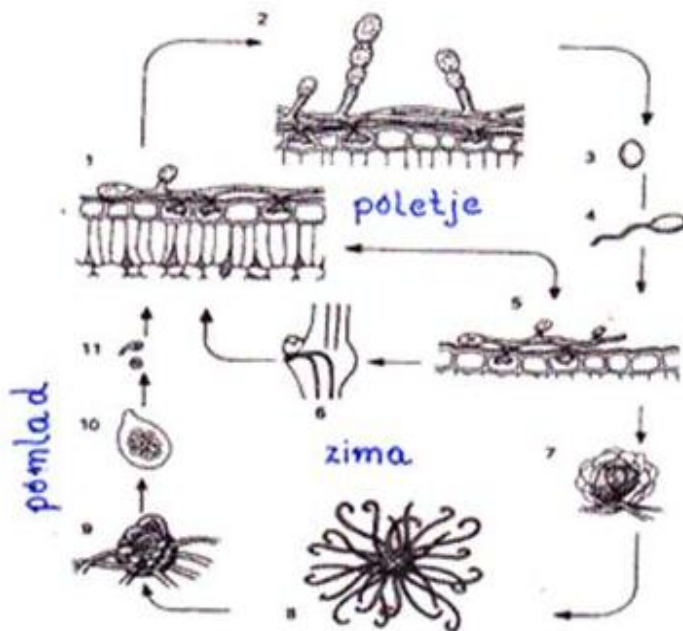
2.1. Opis oidija ali pepelaste plesni vinske trte

Oidij ali pepelovka vinske trte (*Uncinula necator*) je ena pomembnejših glivičnih boleznih poleg peronospore (*Plasmopara viticola*) v vinogradih Slovenije.

Gliva lahko okuži vse zelene dele vinske trte. Je epifit in njegov micelij raste na površju rastline od tam pa požene sesalne bradavice v povrhnjico (epiderm). Glavni čas pojavljanja prvih simptomov je od sredine meseca junija. Na listih se pojavi bolezen v obliki sivkastobelkastih pepelastih prevlek na zgornji in spodnji listni strani, vendar pogosteje na zgornji. Na grozdcih se prav tako pojavi pepelasto siva plesniva prevleka. Kožica napadenih grozdnih jagod, ki so v bujnem razvoju, se ne večja in zato počni in se pokažejo pečke. Na

pozneje okuženih mladica se tudi pojavi pepelasta plesniva plesen, ko pa olesenijo, se na rozgah kažejo rdečkastorjavkaste ali rjavkastovijoličaste nepravilno razporejene pege. Na Primorskem se oidij lahko pojavi že na mladica, ko so te dolge 10 cm. Mladike zaostajajo v rasti in imajo skodrane in delno ali v celoti s sivobelo prevleko pokrite lističe. Na okuženih delih gliva oblikuje obilico poletnih trosov oidijev, ki okužbe širijo. Za kalitev ne potrebujejo vode, ampak zadostuje visoka zračna vlaga od 80 do 95%. Lahko kalijo že pri 5°C, optimalna temperatura za kalitev trosov pa je okrog 25°C (med 21 in 26°C). Najhitreje se oidij razvija v toplem in soparnem vremenu brez dežja. Gliva prezimi na dva načina. Pogostejši je način prezimovanja v obliki micelija v očesih enoletnega lesa med zametki listov. Drugi možni način prezimovanja je v obliki posebnih spolnih plodišč (kleistotecijev), v katerih so askusi s spolnimi trosi (askosporami). Ta plodišča nastanejo v ugodnih jesenih na okuženih listih, največkrat na zgornji strani. Opazimo jih kot drobne črne pikice. Podobno kakor peronosporo je tudi oidij možno uspešno zatirati le z učinkovitimi fungicidi. Ob uporabi pripravkov za zatiranje oidija lahko pojav bolezni zmanjšamo še s sledečimi preventivnimi ukrepi:

- zračne in odprte vzgojne oblike,
- pravočasno opravljena »zelena« dela,
- zmerno gnojenje z dušikom,
- redni pregledi vinogradov, še posebej tistih v zaprtih legah in tistih, ki so bili v preteklem letu močno okuženi.



Slika 1: Razvojni krog glive *Uncinula necator*.
Figure 1: Life cycle of fungus *Uncinula necator*.

2.2. Učinkovitost aktivnih snovi za varstvo pred oidijem

Želja tako uporabnikov kot tudi proizvajalcev FFS je, da se ohrani učinkovitost aktivne snovi čim dlje. Vzrokov za zmanjšanje učinkovitosti oz. za umik aktivne snovi iz tržišča je lahko več:

- Patogen lahko razvije odpornost na neko aktivno snov, zaradi prekomerne rabe pripravka ali pripravkov z enakim ali podobnim načinom delovanja iz iste skupine (seleksijski pritisk).
- Tudi uporaba prevelikih ali premalih odmerkov pripravkov lahko vodi k odpornosti patogena.

- Z novimi spoznanji in razvojem se aktivne snovi nadomestijo z učinkovitejšimi in prijaznejšimi do okolja ter uporabnikov.
- Sredstva, ki ne zadostijo ekotoksikološkim kriterijem se umaknejo iz tržišča.

2.3. Aktivne snovi za varstvo pred oidijem, katere so se uporabljale v bližnji preteklosti v Sloveniji:

triazoli heksakonazol (Anvil), dinikonazol (Sumi osam), triadimefon – (Bayleton Special), propikonazol – (Tilt), primidini - fenarimol – (Rubigan).

2.4. Aktivne snovi, ki so trenutno razpoložljive v Sloveniji

Preglednica1: Razvrstitev v skupine po sorodnosti delovanja (po FRAC- u)

Table 1: Clasiffication in group with affinity working (at FRAC)

kategorija	Skupina	aktivna snov	ime proizvoda
A	žveplo	žveplo	Kumulus
B	strobilurini	piraklostrobin	Cabrio Top
B	strobilurini	kreszoksim-metil	Stroby
B	strobilurini	trifloksistrobin	
B	strobilurini	azoksistrobin	
B G	strobilurini karboksianilidi	krezoksim-metil boskalid	Collis
H	kinolini	kvinoksifen	
I	benzofenoni	metrafenon	Vivando
J	spiroketalamini	spiroksamin	
K	azoli	flukvinkonazol	
K	azoli	penkonazol	
K	azoli	miklobutanil	
L	izociklične spojine	dinokap	

Vir: FRAC / BASF / Tehnična služba

2.5. Način delovanja aktivnih snovi proti oidiju, ki prihajajo iz podjetja BASF/METROB

Podjetje BASF je v zadnjih letih uspelo razviti več aktivnih snovi z različnim načinom delovanja:

- **žveplo - močljivo žveplo (Kumulus)**
Deluje pri temperaturah nad 15 °C , preventivno in kurativno.
Dobro se topi v lipidih (maščobam podobnih snoveh) celičnih sten spor pepelastih plesni, lahko prodira v njihovo notranjost, kjer vpliva na življensko pomembne oksidacijsko-redukcijske procese.
- **piraklostrobin – strobilurini (Cabrio top)**
Aktivna snov je delno sistemična s translaminarnim premeščanjem po rastlini. Takoj po nanosu se deponira na površini rastline, del pa preide v rastlino in z blokado dihanja na kompleksu III prekine prenos snovi za razvoj glive in onemogči nove okužbe. Hkrati deluje tudi na peronosporo.
- **metrafenon – bezofenoni (Vivando)**

Deluje lokalno sistemsko s plinasto fazo, preventivno.

Prepreči rast micelija parazitskih gliv na površini rastline, njihov vdor v celice povrhnjice rastline ter oblikovanje havstorijev in trosov prarazitske glive.

- **boskalid in krezoksim metil – karboksianilidi in strobilurini (Collis)**

Aktivno snov krezoksim metil poznamo že iz pripravka Stroby, ki kot strobilurin deluje mezosistemsko aktivna snov se deponira v vošeni del povrhnjice in prehaja skozi medcelične prostore tudi na spodnjo stran lista. Z dodatkom sistemske aktivne snovi boskalid, ki prekine presnovni proces patogene glive tvorijo skupaj odlično varstvo vinske trte. Deluje tudi na sivo grozdno plesen.

3 REZULTATI

3.1. Poskusi, ki so bili izvedeni v Sloveniji in Evropi

Preglednica 2: Rezultat ocenitve poskusa oidija na vinski trti (leto: 2007; kraj: Nebova pri Mariboru; sorta: Laški rizling; tretiranje: 7; ocenitev: 31.julij – 12 dni po zadnjem tretiranju)

Table 2: Results of evaluation experiment powdery mildew on the viticulture (year: 2007; region: Nebova – Maribor; cultivar: Laški rizling; treatments: 7; assess: 31.julij - 12 days after the last treatment)

Kemični pripravek oz. »program«	stopnja okužbe v %				povpr.	učink. v %	stat. primerjava
	I	II	III	IV			
1. Vivando 0,2 l/ha	1,2	0,2	1,2	0,4	0,8	98,7	X
2. Cabrio top 2,0 kg/ha	0,6	0,4	0,6	0,2	0,5	99,2	X
3. tebukonazol + trifloksistrobin 0,2 kg/ha	0,2	0,8	1,0	0,6	0,7	98,9	X
4. Kumulus DF (0,6% - 3x; 0,3% - 4x)	2,2	1,0	1,0	0,8	1,3	97,9	X
5. Program A	0	0	1,8	1,2	0,8	98,7	X
6. Program B	0	0,4	1,8	6,4	2,2	96,4	XX
7. Program C	0	0	0,6	0,4	0,3	99,6	X
8. Bio - Eko program	2,8	1,4	2,8	6,6	3,4	94,3	X
9. Kumulus nato Vitisan	0	0,4	3,6	3,0	1,8	97,1	XX
10. Kontrola – neškropljeno	48,8	66,2	62,6	60,6	59,5	-	

4 SKLEPI

Primer programa za uspešno varstvo vinske trte pred oidijem, z upoštevanjem strategije trajnostne rabe sredstev za varstvo rastlin, s sredstvi podjetja BASF / METROB.



razvojna faza	odganjanje	pred cvetenjem	od cvetenja do zapiranja	zapiranje grozdov	mehčanje jagod
---------------	------------	----------------	--------------------------	-------------------	----------------

pripravek	Kumulus	Cabrio top	Vivando	Collis	Vivando	Cantus	Kumulus
skupina aktivne snovi	žveplo	strobilurin	benzofenon	boskalid + strobilurin	benzofenon	boskalid	žveplo

Za uspešno in učinkovito varstvo vseh nasadov, ne samo vinske trte, je poleg pravilnega izbora sredstev, pravilnega odmerka in časovne izbire tretiranja, zelo pomembno tudi preventivno varstvo, ki je hkrati cenejše in z manj vpliva na okolje kot kurativna zaščita.

5 LITERATURA

Poročilo o biološkem preizkušanju FFS v sezoni 2007. Fungicidi proti oidiju vinske trte. KGZ Maribor, 2007.

Pevec, T., Kalan, M., Škerbot, I., Friškovec, I., Zadavec, D., Kapun, S., Moličnik-Oblak, S., Škerbot, I., Jančar, M., Miklavc, J., Blažič, M., Kodrič, I., Matis, G., Tomše, S. 2008. Varstvo rastlin: priročnik za uporabnike fitofarmaceutskih sredstev. Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Ljubljana: 112.

PRIKAZ IN ANALIZE IZREDNIH VREMENSKIH POJAVOV NA OBMOČJU JV SLOVENIJE Z UPORABO TEHNOLOGIJE GIS

Domen BAJEC¹, Andreja PETERLIN², Karmen RODIČ³, Jolanda PERSOLJA⁴

^{1,2,3}KGZS – Zavod Novo mesto

⁴Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec

IZVLEČEK

Uničujoči vremenski pojavi postajajo v kmetijstvu vedno večji problem. Toča predstavlja poleg uničenja pridelka posredno nevarnost tudi zaradi fizičnih poškodb na rastlinah v trajnih nasadih. Nastale rane so potencialno vstopno mesto nekaterim karantenskim in gospodarsko pomembnim škodljivim organizmom. V službi za varstvo rastlin na KGZS – Zavodu Novo mesto se na območju JV Slovenije od leta 2003 dalje sistematično dokumentira posledice in oblike izrednih vremenskih pojavov (npr. toča). Pri beleženju dogodkov se obravnava čas, lokacija, obseg in intenzivnost vremenskih pojavov (trajanje in debelina zrn toče). V obdobju od 2003 do 2008 smo dokumentirali 174 lokacij s pojavi toče. Za prikaz in analize podatkov v prostoru ter kartografski prikaz smo uporabili programski paket ArcGIS Desktop 9.2 (ESRI). Način zbiranja podatkov je vezan na zabeležke opazovalcev, ki zaznajo dejansko obliko pojava in jo tudi fotografsko dokumentirajo. Opazovanja pokrivajo ruralno in urbano območje, v večjem delu z gozdovi poraslega območja pa je spremljanje pomanjkljivo. Zanesljivost beleženja dogodkov bi se lahko povečalo z uporabo meritev ARSO in preverjanjem informacij. V tem primeru bi prostorski podatki lahko rabili kot podpora pri izdelavi ocen tveganja za določene škodljive organizme (npr. bakterijo *Erwinia amylovora*, hrošče iz družine Scolytidae,...).

Ključne besede: geografski informacijski sistem, izredne vremenske razmere, ocena tveganja škodljivih organizmov, opazovanje vremenskih pojavov, toča

ABSTRACT

TRACKING EXTREME WEATHER EVENTS IN SE SLOVENIA REGION USING GIS

Devastating weather events are becoming bigger and bigger problem in agriculture. In addition to damaged crops, hail represents also indirect threat of physical injuries to perennial grown plants. Injuries are potential entry point for some quarantine and economically important harmful organisms. Plant protection service in KGZS – Zavod Novo mesto systematically documents consequences and type of extreme weather events (like hail) since 2003. When collecting data, time, location, area and intensity of weather events (duration and hail diameter) are being measured. In the period from 2003 to 2008, we documented 174 localities with hail events. For spatial tracking and map elaboration, we used software package ArcGIS Desktop 9.2 (ESRI). Data gathering is involving observers with their notes of event type and photo documentation. Observations are applied in rural and urban areas, while the forested areas are covered deficiently. Validated event observations could be provided using ARSO measurements and evaluation of gathered data.

¹ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, SI-8000 Novo mesto, e-mail: domen.bajec@gov.si

² dipl. inž. agr. in hort., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ mag, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec

In that case spatial data could be used as support for pest risk assessments for several harmful organisms (like bacteria *Erwinia amylovora*, beetles from *Scolytidae* group,...).

Key words: extreme weather events, geographical information system, hail, weather monitoring, pest risk assessment,

1 UVOD

Uničujoči vremenski pojavi postajajo v kmetijstvu vedno večji problem. Toča povzroča poleg uničenja pridelka tudi posredno nevarnost zaradi fizičnih poškodb na rastlinah v trajnih nasadih. Nastale rane predstavljajo potencialno vstopno mesto nekaterim karantenskim in gospodarsko pomembnim škodljivim organizmom. V prispevku predstavljamo rezultate spremljanja dogodkov s točo in možnost njihovega prikaza v prostoru in času z ustrezno programsko opremo.

2 MATERIAL IN METODE

V službi za varstvo rastlin na KGZS – Zavodu Novo mesto se na območju JV Slovenije od leta 2003 dalje sistematično dokumentira posledice in oblike izrednih vremenskih pojavov (najpogosteje toča). Pri beleženju dogodkov se obravnava čas, lokacija, obseg in intenzivnost vremenskih pojavov (trajanje in debelina zrn toče). Način zbiranja podatkov je vezan na zabeležke opazovalcev, ki zaznajo dejansko obliko pojava in jo tudi fotografsko dokumentirajo. Opazovanja pokrivajo ruralno in urbano območje, v večjem delu z gozdovi poraslega območja pa je spremljanje pomanjkljivo.

Pojave smo poskusili prikazati in ovrednotiti v prostoru z uporabo programskega paketa ArcGIS Desktop 9.2 (ESRI). Ker zabeležke opazovanih lokacij niso vsebovale natančnih koordinat smo pojave prikazali z centroidom naselij sporočenih opazovalnih lokacij. Izdelali smo karte lokacij po posameznih dejavnikih (datum, čas trajanja, debelina zrn toče, obseg pojava).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V obdobju od 2003 do 2008 smo dokumentirali 174 lokacij s pojavi toče. Skupno je bilo v tem obdobju zabeleženih 653 dogodkov.

Zanesljivost beleženja dogodkov bi se lahko povečala z uporabo meritev Agencije Republike Slovenije za okolje (ARSO) in preverjanjem informacij beleženih dogodkov. V nadaljevanju spremljanja bi bilo – zaradi lažjega prostorskega prikaza dogodkov - potrebno poenotiti način spremljanja pojavov, z uvedbo razredov za opis intenzivnosti pojava. Pri dosedanjem spremljanju so se namreč pokazale pomanjkljivosti pri prikazu ekstremov (npr. trije dogodki v dveh dneh) in se pri določanju razredov upošteva le en dogodek / dan z upoštevanjem skupnega časa trajanja dogodka.

Za prikaz povprečnega časa trajanja smo na podlagi pridobljenih informacij določili 4 razrede: 5-10, 10-15, 15-20 in 20-40 minut ter dodatni 5. razred z ekstremom trajanja 40-70 minut. Na sliki 8 je tak ekstremni dogodek prikazan s svetlejšo točko.

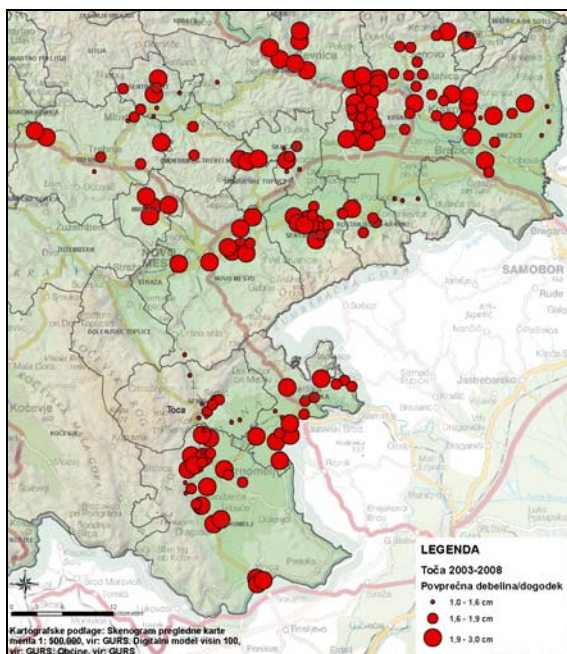
Pri prikazu povprečne debeline zrn toče na dogodek so bili uporabljeni 3 razredi: 1,0-1,6; 1,6-1,9 in 1,9-3,0 cm (Slika 1).

Pri prikazu dogodkov je glede na način pridobivanja informacij potrebno upoštevati dokaj visoko zanesljivost, da se je dogodek na navedeni lokaciji in času zgodil, ter mero subjektivnosti pri oceni intenzivnosti dogodka. Ocena intenzivnosti dogodka temelji na času trajanja in debelini toče, ki pa se med potekom dogodka spreminjata. Manj zanesljiva je tudi informacija o obsegu dogodka (razdalja od centroida kraja dogodka), saj se nevihtni oblaki s točo premikajo, z njimi pa tudi zabeleženi dogodek.

Preglednica 1: Skupno število lokacij z zabeženimi pojavi toče in skupno število dogodkov s točo, po občinah JV Slovenije v obdobju 2003-2008.

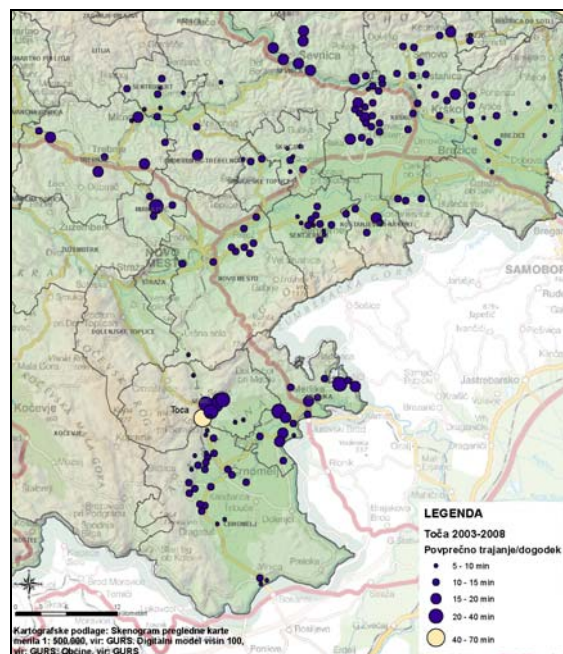
Table 1: Sum of locations with registered events of hail and sum of events with hail per municipalities in SE Slovenia for the period of 2003-2008.

OBČINA:	JV Slovenija v obdobju 2003-2008.	
	Skupno število lokacij z dogodki	Skupno število dogodkov s točo
Brežice	14	36
Črnomelj	26	95
Kostanjevica na Krki	5	26
Kozje	2	4
Krško	39	164
Metlika	16	70
Mirna Peč	4	4
Mokronog – Trebelno	2	7
Novo Mesto	10	41
Semič	10	25
Sevnica	9	12
Šentjernej	12	71
Šentrupert	8	28
Škocjan	6	23
Šmarješke Toplice	3	9
Trebnje	8	38
Skupno število lokacij:	174	653



Slika 1: Pojavi toče s prikazom povprečne debeline zrn na dogodek v obdobju 2003-2008.

Figure 1: Events with hail and average of grain diameter per event for the period of 2003-2008.



Slika 2: Pojavi toče s prikazom povprečnega trajanja na dogodek v obdobju 2003-2008.

Figure 2: Events with hail and average duration per event for the period of 2003-2008.

4 SKLEPI

Pri pripravi prikazov izrednih vremenskih pojavov se srečujemo s številnimi dejavniki, katerih lahko sam način spremljanja onemogoča visoko zanesljivost prikazanega stanja. Za

povečanje zanesljivosti prikaza je potrebno spremeniti način pridobivanja informacij, razširiti opazovalno mrežo in ovrednotiti obremenjenost (npr. s točo) na enoto zemljišča. V tem primeru bi prostorski podatki lahko rabili tudi kot podpora pri izdelavi ocen tveganja za določene škodljive organizme (npr. bakterijo *Erwinia amylovora*, hrošče iz družine Scolytidae,...).

5 ZAHVALA

Zahvaljujemo se vsem udeležencem, ki so vsa ta leta vestno sporočali podatke o opazovanih pojavih.

6 LITERATURA

Ministrstvo za okolje in prostor, Agencija RS za okolje, 2009;
<http://www.arso.gov.si/vreme/poro%c4%8dila%20in%20projekti/> (15.01.2009)

APLIKACIJA FSI - PREGLED KOT PODPORA DELU FITOSANITARNEGA INŠPEKTORJA V OKVIRU CELOVITEGA INFORMACIJSKEGA SISTEMA ZDRAVSTVENEGA VARSTVA RASTLIN

Radovan LIČEN¹, Joži JERMAN CVELBAR², Anita BENKO BELOGLAVEC³

^{1, 2, 3} Ministrstvo za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano, Inšpektorat RS za kmetijstvo,
gozdarstvo in hrano, Fitosanitarna inšpekcija

IZVLEČEK

V okviru Fitosanitarne inšpekcije je bila leta 1994 izdelana posebna aplikacija, imenovana CK, ki je bila prilagojena zlasti uvoznim in izvoznim inšpekcijskim postopkom. Z letom 1996 se je Fitosanitarna inšpekcija začela pripravljati na vstop v Evropsko unijo in s tem na uveljavljanje sistema rastlinskega potnega lista na skupnem trgu Evropske unije. V naslednjih letih je bila vse bolj očitna potreba po prenovi obstoječe računalniške aplikacije. Leta 2005 je tako Fitosanitarna inšpekcija začela uporabljati novo aplikacijo FSI-Pregled. Nova aplikacija omogoča vodenje zadev v skladu s predpisi o pisarniškem poslovanju državnih organov, vnašanje zbranih podatkov o opravljenih pregledih, delo z GIS orodji, pripravo in tiskanje zapisnikov, odločb in certifikatov, izdajanje računov za plačilo pristojbin, omogoča elektronsko komunikacijo z laboratoriji in pripravo ter izpis obvestil o zadržanju pošiljk (notifikacije). Aplikacija nudi zbiranje in urejanje podatkov o izvoznih in uvoznih pošiljkah rastlin in rastlinskih proizvodov (vključno z uvozom fitofarmaceutskih sredstev), obveznih fitosanitarnih pregledih pri zavezancih iz Fito/Seme Registra, pregledih v okviru posebnih nadzorov in inšpekcijskem spremljanju zdravstvenega stanja rastlin. Fitosanitarni inšpektorji v aplikacijo beležijo tudi odredjene ukrepe, razloge ukrepov ter število rastlin za katere so bili odredjeni ukrepi in podatke o prekrškovnih postopkih. Za vsak zdravstveni pregled vnašajo tudi podatke o lokaciji pregleda (z določitvijo x in y koordinat), vrsti pregledanih rastlin, izvoru rastlin, jemanju vzorcev in analiznih izvidih ter o ugotovljenih škodljivih organizmih.

Ključne besede: aplikacija FSI-pregled, fitosanitarni inšpekcijski nadzor

ABSTRACT

COMPUTER APPLICATION (FSI-PREGLED) – SUPPORT TO THE WORK OF A FITOSANITARY INSPECTOR IN THE CONTEXT OF A COMPLETE PLANT HEALTH INFORMATION SYSTEM

In 1994, a special computer application named CK was created for internal use of Phytosanitary inspection. It was adapted for import and export inspection procedures. In 1996, the Phytosanitary inspection started its preparation for joining the EU which involved also introduction of the plant passport system at the internal EU market. In the following years it had become clear that renovation of the existing computer application would be necessary. In 2005, the Phytosanitary inspection began to use its new application named FSI- Pregled. The new application provides that inspection procedures are conducted according to the legislation on administrative procedures in public administration. It provides input of data on inspections, work with GIS (Geographic Information System), preparation and printing of records, decisions, certificates and invoices. Furtheron, it provides electronic

¹ univ. dipl. inž. agr., Parmova 33, SI-1000 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

communication with laboratories, preparation and printing of notifications, collection and editing of data on import and export consignments of plants and plant products (including plant protection products), obligatory phytosanitary checks of producers, surveys and inspection monitoring. Phytosanitary inspectors record also the measures taken and the reasons thereof, the number of plants, and data on violation procedures. For each plant health check, inspectors collect data on the location of inspection (identifying geographic coordinates), plant species, and origin of the plants, sampling and analysis reports, and data on the pests determined.

Key words: application FSI-pregled, phytosanitary inspection control

1 UVOD

Fitosanitarna inšpekcija je svojo prvo računalniško aplikacijo pričela uporabljati leta 1994. To je bila lokalno nameščena aplikacija imenovana CK. Aplikacija je bila enostavna in hitra, omogočala pa je le podporo inšpekcijskim postopkom na izvoznih in uvoznih pošiljkah. Z letom 1996 se je Fitosanitarna inšpekcija začela pripravljati na vstop v Evropsko unijo in s tem na uveljavljanje sistema rastlinskega potnega lista. Področje dela fitosanitarnih inšpektorjev se je začelo širiti in poleg inšpekcijskih postopkov ob uvozu in izvozu, so se pristojnosti širile tudi na mesta pridelave in na trg v notranjosti države. Aplikacija CK ni nudila možnosti za kvaliteten vpis podatkov o pregledih v notranjosti. Ker je število le-teh iz leta v leto naraščalo je Fitosanitarna inšpekcija v letu 2004 začela s postopki za prenovo obstoječe aplikacije. Prenovljeno aplikacijo, imenovano FSI pregled, je Fitosanitarna inšpekcija začela uporabljati leta 2005.

2 ZAHTEVE PRI NAČRTOVANJU APLIKACIJE FSI PREGLED

Pri načrtovanju aplikacije je bilo potrebno upoštevati naslednja izhodišča: aplikacija mora zadostiti vsem zahtevam zakonodaje, ki ureja poslovanje z dokumentarnim gradivom, omogočati mora vnos podatkov za vse postopke Fitosanitarnih inšpekcije, vklapljati se mora v celovit informacijski sistem službe za varstvo rastlin in aplikacija mora biti zasnovana tako, da bo uporabniku tudi v pomoč in podporo pri delu.

2.1 Poslovanje z dokumentarnim gradivom

Aplikacija FSI Pregled je bila načrtovana v skladu z zahtevami Uredbe o poslovanju organov javne uprave z dokumentarnim gradivom. Pri odpiranju zadeve se v aplikaciji kreirajo vsi v zakonodaji predpisani podatki o zadevi (klasifikacijska oznaka, stranka, naziv zadeve...). Aplikacija omogoča vstavljanje dokumentov v elektronski obliki, izdelavo dokumentov, lahko pa se vanjo prenesejo tudi dokumenti presneti z optičnim čitalcem ali dokumenti pripravljene z drugimi programskimi orodji. Omogoča tudi vodenje elektronskega popisa zadeve, zaključitev in arhiviranje zadev ter evidentiranje prispele in oddane pošte ter potrdil o vročitvi.

2.2 Vnos podatkov

Fitosanitarna inšpekcija nadzoruje izvajanje več zakonov. Pri pregledih fitosanitarni inšpektorji ugotavljajo skladnost z zahtevami in sicer ustreznost listin, identiteto rastlin in navzočnost škodljivih organizmov ter odredjajo fitosanitarne ukrepe. Postopke vodijo v skladu z Zakonom o inšpekcijskem nadzoru in Zakonom o upravnem postopku. Fitosanitarni inšpektorji vodijo postopke tudi po Zakonu o prekrških, ki pa se beležijo v posebnem modulu

aplikacije.

V večini vnosnih polj je mogoče vrednosti in podatke izbirati iz priloženih šifrantov in le pri nekaterih je dovoljen prosti vpis. Nekatera polja so obvezna in preden niso izpolnjena zapisa ni mogoče dokončati.

2.2.1 Zakonodaja

Aplikacija omogoča vpis podatkov, ki se zbirajo pri pregledih po vseh zakonih, ki jih nadzoruje Fitosanitarna inšpekcija: Zakon o zdravstvenem varstvu rastlin, Zakon o semenskem materialu kmetijskih rastlin, Zakon o fitofarmaceutskih sredstvih, Zakon o kmetijstvu in Zakona o gozdnem reprodukcijskem materialu. Prav tako omogoča vpis podatkov o postopkih po Zakonu o inšpekcijskem nadzoru in Zakonu o upravnem postopku.

2.2.2 Prijava pridelave in pregledi

Podatke o prijavi pridelave se v sistem vnaša z Aplikacijo FSI Pregled ali z aplikacijo na Fitosanitarni upravi. Do podatkov, ki so vneseni na Fitosanitarni upravi se vzpostavi povezava.

V aplikacijo inšpektorji vnašajo podatke o vseh pregledih rastlin in rastlinskih proizvodov: pregledi ob uvozu in izvozu, na mestih pridelave, pregledi varovalnih pasov okrog enot pridelave, pregledi v okviru inšpekcijskega spremljanja/nadzora pri premeščanju (trženju) in podatki o pregledih po programih posebnih nadzorov. V aplikacijo se vnašajo tudi pregledi fitofarmaceutskih sredstev ob uvozu.

2.2.3 Podatki o pregledanih in vzorčenih rastlinah in rastlinskih proizvodih (v nadaljevanju rastline)

Za pregledane rastline se v aplikacijo vnesejo podatki o lokaciji (opis lokacije in koordinate). Vnos koordinat lokacije je obvezen podatek pri vpisu, na voljo je več načinov za določanje koordinat (centroid izbrane parcelne številke ali GERK-a, koordinate iz naslova stranke ali poljubnega naslova, koordinate locirane točke na zemljevidu...). Nato inšpektorji vpišejo podatke o rastlini: botanično ime (rod, vrsta), sorta, partija, država izvora, vrsta rastlin (sadike, podlage, matične rastline, rastoča rastlina, plodovi...), starost in površina oziroma količina. V nekatera od teh polj je vnos podatka obvezen in zapisa ni mogoče dokončati, če so ta polja prazna.

Pri vsaki pregledani rastlini je možnost vpisa škodljivih organizmov, ki so bili določeni z vizualnim pregledom. V primeru odvzema vzorca inšpektor v aplikacijo vnese še podatke o vzorcu: predmet vzorčenja (list, cela rastline, plod, lubje,...), številka vzorca, laboratorij, namen testiranja (sum na določen škodljivi organizem, preverjanje na latentno okužbo), število rastlin z bolezenskimi znaki, škodljivi organizem na katerega se zahteva analiza. Aplikacija FSI Pregled podpira sistem vzorčenja z natisnjenimi etiketami s številkami vzorcev. Za vsak vzorec so na voljo tri oziroma štiri etikete različnih velikosti. Manjše etikete se nalepi na zapisnik o vzorčenju, večje pa na vzorec in po potrebi na vzorčene rastline. V aplikacijo se vnese številka vzorca iz nalepke, s čimer je onemogočen večkratni vnos iste številke. Enak sistem je uveden tudi v celoten informacijski sistem službe za varstvo rastlin. Fitosanitarna uprava pripravlja etikete s črtno kodo, ki bodo enotne za vse udeležene institucije.

2.2.4 Neskladja in opozorila

V aplikacijo se beležijo ugotovljena neskladja z zahtevami v predpisih in opozorila izdana na podlagi Zakona o inšpekcijskem nadzoru.

V aplikaciji se zbirajo tudi vsi potrebni podatki za pripravo ter izpis obvestil o zadržanju pošiljk (notifikacije).

2.2.5 Ukrepi

Za izrečene ukrepe se v aplikacijo vnese ukrep in razlog ukrepa. Če je ukrep povezan s pregledano rastlino, se ga v aplikaciji poveže s podatki o pregledani rastlini. Inšpektor vpiše še število rastlin na katerih je bil ukrep odrejen in razlog (na primer: škodljivi organizem).

2.3 Združljivost z informacijskim sistemom službe za varstvo rastlin

Na podlagi razlogov navedenih v uvodu članka, je bila aplikacija FSI Pregled izdelana, preden je bil pripravljen informacijski sistem, katerega del je in s katerim morajo biti vzpostavljene potrebne povezave. Zaradi obrnjenega vrstnega reda vzpostavljanja informacijske sistema, je bila najtežja naloga pri načrtovanju in vzpostavitvi aplikacije usklajevanje z informacijskim sistemom celotne službe za varstvo rastlin.

Aplikacija FSI Pregled je zaradi prilagajanja nastajajočemu informacijskemu sistemu že doživela nekaj prilagoditev.

Je ena izmed številnih aplikacij, ki tvorijo informacijski sistem službe za varstvo rastlin in uporabljajo iste zbirke podatkov ter prispevajo podatke v skupno zbirko podatkov o zdravstvenih pregledih. Združljivosti podatkov iz različnih aplikacij se zagotavlja tako, da uporabljajo aplikacije iste šifrate za vnos podatkov. Nabor podatkov iz aplikacije FSI Pregled predstavlja velik del vseh podatkov zbranih v skupni zbirki. Od 176.000 zapisov, ki so v skupni zbirki zapisov v času priprave tega članka, jih je iz aplikacije FSI Pregled kar 150.000 in od skupno 16.100 vzorcev je iz aplikacije FSI Pregled kar 11.500 vzorcev. Aplikacija FSI Pregled je neposredno ali posredno, preko zbirk podatkov, ki so na voljo na Ministrstvu za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, povezana z Registrom kmetijskih gospodarstev, Evidenco subjektov, Centralnim registrom prebivalstva, Poslovnim registrom, z zbirkami podatkov na Geodetski upravi.

2.4 Pomoč pri delu fitosanitarnega inšpektorja

Kot je bilo že omenjeno, nudi aplikacija vso podporo za delo v skladu z Uredbo o poslovanju javne uprave z dokumentarnim gradivom. Z urejevalnikom besedila, ki je vgrajen v aplikacijo, je mogoče oblikovati obrazce spričeval in besedila dokumentov in jih nato tiskati. Za hitrejše oblikovanje dokumentov so na voljo predloge teh dokumentov. Iz podatkov o zadevi in stranki je omogočena priprava in tiskanje ovoja spisa in razne kuverte, vročilnice. Aplikacija je v pomoč pri načrtovanju obveznih fitosanitarnih pregledov pri imetnikih iz Fito Registra. Z njo inšpektor dostopa do seznama vseh mest pridelave, ki so vpisane v Fito Register in do zaznamkov o opravljenih pregledih na teh mestih pridelave. Z GIS orodji in pregledovalniki je mogoče izdelati karte z vrisanimi varovalnimi pasovi ali območji na katerih so predpisani pregledi.

Z orodji je mogoče iz zbranih podatkov pripraviti raznovrstne poizvedbe, ki služijo za načrtovanje ali analizo opravljenega dela.

V aplikaciji so zbrani vsi podatki, potrebni za pripravo poročil, ki jih oblikuje urad glavnega inšpektorja. Nekaj teh poročil je standardiziranih, druge podatke administrator pripravi s

pomočjo poizvedb po podatkih.

Načrtovana je uvedba in izpeljava elektronskega poslovanja med vsemi udeleženci informacijskega sistema službe za varstvo rastlin, tako da bi med institucijami krožili le elektronski dokumenti in nič več pisni.

3 SKLEPI

Cilj vsake aplikacije so obdelave vnesenih podatkov, rezultat takih obdelav pa je zelo odvisen od kvalitete vnesenih podatkov. Zato pri uporabi aplikacij naletimo na različne dileme.

Kakšno naj bo število podatkov, ki se beležijo v sistem? Bolj kot so podatki raznovrstni in številčnejši kot so, večje je število vnosnih polj ter pripadajočih šifrantov in več je različnih mask, ki so potrebne za vnos podatkov. Pri velikem številu vnosnih polj, lahko postane aplikacija nepregledna.

Lahko se odločimo za togo aplikacijo, pri kateri so vpisi v vsa polja obvezni ali fleksibilnejšo varianto, pri kateri lahko nepotrebne podatke za posamezne vrste vpisov izpustimo. S tem je tveganje za napake pri vnosu večje.

Namen celovite računalniške aplikacije je zagotoviti dostopnost ažurnih podatkov za poročila in pripravo inšpektorja na inšpekcijski pregled. Aplikacija zahteva vpisovanje podatkov, ki postaja ena izmed pomembnih nalog inšpektorja. Natančno vpisovanje v aplikacijo namreč zahteva veliko časa. Pri načrtovanju zahtev o številu podatkov, ki naj jih zajema aplikacija, je zato potrebno ves čas iskati ustrezno sorazmerje med porabljenim časom inšpektorja in uporabnostjo vnesenih podatkov.

4 LITERATURA

Razpisna dokumentacija za vzdrževanje in prilagoditve informacijskih sistemov Fitosanitarnе inšpekcije, številka 326-03-11/2004

Navodila za vpisovanje v računalniško aplikacijo FSP, številka 0612-3-2007/39.

PROBLEMS OF APHID CONTROL IN APPLE ORCHARDS IN 2007

Dušanka INĐIĆ¹, Slavica VUKOVIĆ², Mila GRAHOVAC³, Vojislava BURSIĆ⁴, Dragana ŠUNJKA⁵

^{1,2,3,4,5}Faculty of Agriculture, Department for Enviromental and Plant Protection, Novi Sad, Serbia

ABSTRACT

Reduction of insect susceptibility to insecticides is usually the reason for their application failure, especially those from organophosphate, carbamate and pyrethroid group, while other reasons are rarely mentioned. Therefore, investigations are directed towards effectiveness testing of parallel preparations (of different producers), mixes and those with mechanical way of action (petroleum oils), for *Aphis* sp. on apple. In apple orchards (Begeč, Krčedin and Bačka Palanka) during the year 2007 trials were set under standard (OEPP 1/21, 1997) method. Preparations on the basis of chlorinepyrifos, chlorinepyrifos + cipermetrine and petroleum oils, in quantities for practical use, were applied. Effectiveness and significance of differences for mean value were calculated by Henderson and Tilton formula (ANOVA). Efficacy of tested preparations differed subject to applied quantities and application conditions. Products on the basis of chlorinepyrifos and chlorinepyrifos + cipermetrine in the area of Begeč, Krčedin and Bačka Palanka showed lower efficacy (47% - 85.9%) after one, two and three days, and so did petroleum oils (16.5% - 66.4%). After five and six days from application, chlorinepyrifos and mixes showed efficacy from 11.7% to 84.2% and petroleum oils from no effect to efficacy of 73.2%. Those investigations were done in June and July in conditions of high temperature (max. 36-42 °C). Trials were repeated during September (Bačka Palanka), when the same insecticides revealed high efficacy (88.1% - 97.5%) three to seven days after application treatment, under lower average daily temperatures (max. 28 °C). The cause for such efficacy of insecticides in aphid control in apple could possibly be found in specific agroecological conditions, extremely high temperatures and maybe in unadjusted pesticide formulations for high temperatures, or in presence of other related aphid species amongst of which in 2008. *A. spiraecola* Patch. was detected.

Key words: aphids (*Aphididae*), apple orchard, insecticides, efficacy

1 INTRODUCTION

In our occupational public, presentation of data concerning insufficient insecticide efficacy, especially those from organophosphate and pyrethroid group in aphid control, is becoming more and more often.

According to Elezović *et al.* (2006) in some localities in Serbia lower efficacy of dimethoate in *Aphis pomi* de Geer control was determined. Inđić *et al.* (2006) claim similar, referring to organophosphates and pyrethroids, although there is no organized monitoring or concrete data concerning this unwanted incidence. Change in efficacy of products from neonicotinoid group have not been registered, therefore those insecticides are still successfully used in our region as petroleum oils also. Taking into account resistance as possible and more often consequence of high insecticide selection pressure, the aim of this study was comparative analysis of insecticide efficacy for *A. pomi*, subject to several factors which could have significant impact on efficacy change (quality of comparative products, temperature rise, possible presence of invasive aphid species, susceptibility alternation or differences).

2 MATERIALS AND METHODS

In apple orchards (Begeč, Krčedin and Bačka Palanka) during 2007 trials were set according to standard OEPP (PP 1/21, 1997) method (Anonimus, 1997). Product on the basis of chlorpyrifos, chlorpyrifos + cipermetrine and petroleum oils in quantities for practical use were applied (table 1). Treatment was foliar with water consumption of 1000 l/ha. Trials were set in four replicate randomized block design. The trial in Bačka Palanka was set on 13. 06. 2007., in Begeč on 14. 06. 2007., in Krčedin on 13. 07. 2007., and again in Bačka Palanka on 15. 09. 2007. Results are shown through mean values for aphid abundance and efficacy (E %) according to Henderson and Tilton (Wintzel, 1963), as standard deviation (Sd) and lowest significance of differences (ANOVA) also.

Table 1. Products, active ingredient, application concentration and producer

Products	Active ingredient	Application conc. (%)	Producer
Despot	chlorpyrifos+cypermethrin	0.075; 0.1	Hemovet D.O.O.
Nurelle- D*	chlorpyrifos +cypermethrin	0.1	Dow Agro Sciences
Kozma	chlorpyrifos	0.1; 0.15	Hemovet D.O.O.
Pyrinex 48 EC*	chlorpyrifos	0.15	Makhteshim, Beer-Sheva
Sunspray 7E	petroleum oils	0.05; 1.0; 1.5	Sun oil company, Belgium
Eos*	petroleum oils	1	Makhteshim, Beer-Sheva

* default products

3 RESULTS AND DISCUSSION

Author's aim was not only the analysis of insecticide efficacy for *A. pomi* control in apple, but also determination of possible reasons and conditions for unusually low insecticide efficacy for the above mentioned species (table 2-5). Basic aspects of data analysis are directed towards: a) quality of comparative products; b) temperature conditions; c) development cycle of aphids and distinctive polymorphism d) presence of other aphid species in apple; e) insecticide efficacy change.

Table 2. Average number of green apple aphid (*A. pomi*) and insecticide efficacy two and six days after application (B. Palanka locality, June 2007.)

products (con. %)	two days after application			six days after application		
	x	Sd±	E %	x	Sd±	E %
Despot (0.075)	349.2 cd	161.9	58.1	511.2 bcd	172.5	11.7
Despot (0.1)	332.5 cd	65.5	62.6	343.7 cd	127.3	44.3
Nurelle- D (0.1)	360.0 cd	38.1	51.8	332.5 cd	98.0	36
Kozma (0.1)	592.5 bc	192.4	23.2	573.7 bc	249.5	0
Kozma (0.15)	408.7 cd	127.6	53.5	376.2 bcd	175.3	38.4
Pyrinex 48EC(0.15)	223.7 d	160.8	68.9	226.5 d	109.3	54.6
Sunspray 7E (0.5)	497.5 cd	218.0	34.2	564.2 bc	300.4	0
Sunspray 7E (1.0)	863.7 ab	262.4	24.4	941.2 a	216.2	0
Sunspray 7E (1.5)	427.5 cd	133.2	46.6	386.2 bcd	157.4	30.6
Eos (1.0)	916.2 ab	445.5	16.5	652.5 abc	179.9	14.4
Untreated	995.0 a	89.8		691.2 ab	240.9	
LSD 5%	282.1			279.2		

x – mean value; Sd ± - standard deviation; E % - efficacy

Table 3. Average number of green apple aphid (*A. pomi*) and insecticide efficacy one and five days after application (Begeč locality, June 2007.)

products (con. %)	one days after application			five days after application		
	x	Sd±	E %	x	Sd±	E %
Despot (0.075)	220.0 bc	74.7	60.4	221.3 bcd	61.8	53.8
Despot (0.1)	270.0 b	147.2	69.6	243.8 bcd	84.8	68.2
Nurelle- D (0.1)	92.5 d	59.5	85.9	110.0 d	91.9	80.6
Kozma (0.1)	272.5 b	38.6	60.2	317.5 bc	100.9	46.2
Kozma (0.15)	102.5 cd	78.4	84.7	93.8 d	33.5	83.8
Pyrinex 48EC (0.15)	98.8 cd	37.3	80.4	68.8 d	44.0	84.2
Sunspray 7E (0.5)	323.8 b	135.5	52.6	345.0 b	196.6	41.4
Sunspray 7E (1.0)	247.5 bc	131.3	66.4	170.0 cd	143.1	73.2
Sunspray 7E (1.5)	275.0 b	68.2	61.5	201.2 bcd	94.2	67.3
Eos (1.0)	228.7 bcd	31.7	64.4	150.0 cd	65.4	72.9
Untreated	653.8 a	120.0		563.8 a	127.3	
LSD 5%	138.2			153.6		

x – mean value; Sd ± - standard deviation; E % - efficacy

Table 4. Average number of green apple aphid (*A. pomi*) and insecticide efficacy two and six days after application (Krčedin locality, July 2007.)

products (con. %)	three days after application			six days after application		
	x	Sd±	E %	x	Sd±	E %
Despot (0.075)	597.5 bc	126.6	52.7	431.2 bc	129.4	55.7
Despot (0.1)	565.0 bc	108.1	47.0	431.2 bc	37.3	47.5
Nurelle- D (0.1)	627.5 bc	162.8	51.9	538.7 b	117.3	46.4
Kozma (0.1)	340.0 d	103.8	74.0	292.5 c	100.2	70.9
Kozma (0.15)	488.7 cd	110.2	60.4	333.7 bc	45.0	64.9
Pyrinex 48EC(0.15)	476.2 cd	115.7	59.4	367.5 bc	95.4	59.3
Sunspray 7E (0.5)	688.7 b	161.1	43.9	461.2 bc	51.7	51.3
Sunspray 7E (1.0)	587.5 bc	132.1	54.2	481.2 bc	128.7	51.3
Sunspray 7E (1.5)	577.5 bc	216.1	56.3	503.7 bc	82.9	50.5
Eos (1.0)	447.5 cd	68.1	54.5	511.2 bc	194.0	32.5
Untreated	1338.7 a	203.4		1031.2 a	284.9	
LSD 5%	168.9			192.66		

x – mean value; Sd ± - standard deviation; E % - efficacy

Table 5. Average number of green apple aphid (*A. pomi*) and insecticide efficacy three to seven days after application (B. Palanka locality, September 2007.)

products (con. %)	three days after application			seven days after application		
	x	Sd±	E %	x	Sd±	E %
Despot (0.075)	41.3 b	32.8	92.8	3.7 b	4.8	99.3
Despot (0.1)	43.8 b	39.9	92.6	6.2 b	9.5	98.9
Nurelle- D (0.1)	46.3 b	56.2	91.6	3.7 b	7.5	99.2
Kozma (0.1)	50.0 b	32.4	88.1	15.0 b	12.9	96.3
Kozma (0.15)	11.3 b	13.1	97.5	3.7 b	7.5	99.1
Pyrinex 48EC(0.15)	10.0 b	8.2	97.5	5.0 b	9.9	98.7
Sunspray 7E (0.5)	31.2 b	13.2	89.4	7.5 b	8.7	97.4
Sunspray 7E (1.0)	23.8 b	30.9	91.1	12.5 b	11.6	97.2
Sunspray 7E (1.5)	13.8 b	4.8	97.0	9.5 b	7.5	97.9
Eos (1.0)	16.3 b	12.5	95.1	3.3 b	6.5	98.9
Untreated	640.0 a	164.3		618.3 a	138.7	
LSD 5%	79.4			60.3		

x – mean value; Sd ± - standard deviation; E % - efficacy

Comparison of biological effects, as of efficacy of comparative products (same active ingredient, different producer) applied in different conditions, did not bring to conclusion that they have statistically significant difference in efficacy which favours equivalence of quality of products.

We are also witnesses of global warming. Trials were done during June under high temperatures. Maximum daily temperatures were up to 36 °C with precipitation of 30 mm in B. Palanka and Begeč. Insecticide efficacy in locality of Bačka Palanka two days after application was 16.5-68.9% independently from insecticide and quantity, and after six days, from no effect to 54.6%. In locality of Begeč one day after insecticide application, efficacy was 52.6-85.9%, and after five days 41.4-84.2%, also independently from quantity and mode of action of insecticide. During July, maximum daily temperatures were up to 42 °C and precipitation up to 25 mm in Krčedin locality. Insecticide efficacy in this locality three days after application was 43.9-60.4%, and after six days it was 32.5-70.9%, independently from insecticide. In September maximum daily temperature in locality of B. Palanka was up to 28 °C, precipitation 34 mm, and efficacy three days after insecticide application was 88.1-97.5%, and after seven days 97.2-99.3%, independently from application quantity and insecticide mode of action.

Comparing insecticide efficacy realized in June and in September on the same aphid population (B. Palanka) with equal quantities of product, differences are observed, and they could be the consequence of high temperatures or more complex development cycle of aphids because during one year one sexual generation is substituted with several asexual generations (Petrović-Obradović, 2003, Almaši *et al.*, 2004). According to newer results (Petrović-Obradović *et al.*, 2007; 2008; 2009) aphid control in apple is becoming more and more significant problem for Serbian producers, referring to occurrence of expressive resistance to insecticides and occurrence of new species – *Spiraea* aphid, *Aphis spiraeicola* Patch, as the main reasons. The same authors found this new species on larger number of plant species, in mixed colonies with *A. pomi* or solely *A. spiraeicola* in smaller colonies. It has been detected in many localities and in vicinity of Novi Sad also. Morphologically, these two aphid species are very similar, with similar hosts, yet *Aphis spiraeicola* is known for its expressive resistance to insecticides and with global warming it is spreading towards North also. Mezei and Kerekes (2006) characterized *A. spiraeicola* as extreme condition resistant and dominant in apple orchards in Hungary.

Accordingly, from the aspect of control it is important to determinate the species, when it occurs, where it overwinters, when colonies start to form, which stage is dominant, when it is the most harmful, is there a secondary host, when and on which plant species it migrates during summer, which are control threshold (Inđić *et al.*, 2006).

Concerning possible resistance incidence of *A. pomi* to organophosphate insecticides, pyrethroids, global warming or occurrence of new, harmful species (*A. spiraeicola*) in community with the above mentioned (Petrović – Obradović *et al.*, 2007), the problem of insecticide resistance becomes somewhat more comprehensive.

4 CONCLUSIONS

On the basis of realized insecticide efficacy trials in *Aphis pomi* control and realized differences subject to locality (B. Palanka, Begeč, Krčedin), population and time of application, next conclusions can be made:

- Realized efficacy of insecticides points to differences in quality of comparative products (products of different producers and the same active ingredient);

- Insecticide efficacy realized in June and September on the same aphid population with the same product quantities differs which is probably the consequence of high temperatures and complex aphid development cycle, because during one year one sexual generation is substituted by several asexual populations;
- Detection of *Aphis spiraecola* in our region is also probable cause of efficacy decrease of applied products on mentioned species, which is distinctive for its lower susceptibility to insecticides.

5 REFERENCES

- Anonymus (1997): Aphids on fruit PP 1/21 (2) 1997. EPPO Standards, Guidelines for the Efficacy Evaluation of Plant Protection Products, Vol.3. Insecticidae and Acaricides, OEPP/EPPO, Paris, 34-36.
- Almaši, R., Injac, M., Almaši, S. (2004): Štetni i korisni organizmi jabučastih voćaka. Novi Sad.
- Indić, D., Krstić, B., Almaši, R., Petrović-Obradović, O., Vuković, S., Bulajić, A. (2006): Problemi suzbijanja biljnih vaši u našoj zemlji. VIII Savetovanje o zaštiti bilja, Zbornik rezimea, 18-20.
- Mezei, I., Kerekes, G. (2006): Occurrence and damage of *Aphis spiraecola* Patch. in Hungary. *Novenyvedelem*, 42, 79-85.
- Elezović, I., Tamaš, N. i Miletić, N. (2006): Rezistentnost lisnih vašiju na insekticide. *Pesticidi i fitomedicina*, Vol. 21, No. 1, 9-19.
- Petrović-Obradović, O. (2003): Biljne vaši (Homoptera: Aphididae) Srbije, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Petrović-Obradović, O., Graora, D., Jerinić-Prodanović, D.(2007): Istraženost i značaj biljnih vašiju i lisnih buva u Srbiji. XIII Simpozijum sa savetovanjem o zaštiti bilja sa međunarodnim učešćem, Zbornik rezimea, 18-20.
- Petrović-Obradović, O., Vukašinović, D., Vučetić, A., Milovanović, P., Krnjajić, S. (2008): *Aphis spiraecola* Patch, nova štetočina jabuke u Srbiji. IX Savetovanje o zaštiti bilja, Zbornik rezimea, 124-125.
- Petrović-Obradović, O., Vukašinović, D., Vučetić, A., Milovanović, P., Krnjajić, S. (2008): *Aphis spiraecola* Patch, nova štetočina jabuke u Srbiji. *Biljni lekar*, br.1, 7-10.
- Wentzel, H. (1963): *Pflanzenschutz nachrichten Bayer*. The basic Principles of Orchard Protection Field Trials, 1963/3.

MOLEKULARNA IDENTIFIKACIJA PRAVIH LISTNIH UŠI (Sternorrhyncha: Aphidoidea) NA PODLAGI NUKLEOTIDNE ANALIZE REGIJE CITOKROM OKSIDAZA I

Peter KOZMUS¹, Špela MODIC²

^{1,2}Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

V prispevku opisujemo molekularno metodo identifikacije pravih listnih uši. V analizo smo vključili 55 vzorcev pravih listnih uši. Pri identifikaciji smo se osredotočili na 708 bp dolgo regijo gena za citokrom oksidazo I (COI) v mitohondrijski DNK. Za identifikacijo smo uporabili metodo sekvenciranja. Identificirali smo 39 vzorcev listnih uši, iz 15-tih rodov družine Aphididae. Skupno smo molekularno določili 19 različnih vrst listnih uši. Ugotovili smo relativno visoko stopnjo polimorfizma med vrstami (3 - 13%), znotraj vrst pa je bila vrednost manjša (0 - 1.5%). Z analizo smo potrdili, da je regija COI primerna za razločevanje pogostejših vrst listnih uši.

Ključne besede: citokrom oksidaza I, genetika, listne uši, molekularna identifikacija

ABSTRACT

MOLECULAR IDENTIFICATION OF APHIDS (Sternorrhyncha: Aphidoidea) BASED ON NUCLEOTIDE ANALYZES OF CYTOCHROME OXIDASE I REGION

In the current article we describe the molecular method used for aphid identification. 55 samples of aphids were included in the analysis in which we focused on 708 bp long fragment of cytochrome oxidase I (COI) in the mitochondrial DNA. For species identification we used sequence analysis. We identified 39 samples of aphids from 15 races of the family Aphididae. A total of 19 different aphid species were identified genetically. Between species the level of polymorphism was 3-13 percent, within species it was 0-1.5. With the analysis we have confirmed that the COI region was suitable for genetic identification of the most widely spread aphids.

Key words: cytochrome oxidase I, genetics, aphids, molecular identification

1 UVOD

Listne uši (naddružina Aphidoidea) so drobne, fitofagne vrste žuželk, ki prevladujejo v severnem zmernem podnebnem pasu. Na svetu je znanih več kot 4700 vrst listnih uši (Remaudiere in Remaudiere, 1997), v Evropi pa približno 1500 vrst (Petrović-Obradović, 2003), od teh jih živi v Sloveniji 197 vrst (Modic in Urek, 2008). Ker so listne uši majhne žuželke, njihov napad pogosto opazimo šele po poškodbah na rastlinah. Povzročajo posredno in neposredno škodo. Neposredno škodo rastlinam povzročajo z izsesavanjem sokov iz njihovih različnih delov in s tem povzročajo različne kodravosti, bulavosti, razbarvanja, zvijanja listov in poganjkov, izrastke ter deformacije cele ali le posameznega dela rastline. Posredno škodo povzročajo s prenosom številnih virusov (Blackman in Eastoup, 2002), ker se

¹ dr., Hacqutova 17, SI-1000 Ljubljana, e-mail: peter.kozmus@kis.si

² mag., univ. dipl. inž. agr., prav tam

v svojem letnem ciklu selijo iz prvotnih na drugotne gostitelje in s hranjenjem na gostitelju, ki je okužen postanejo prenašalke različnih rastlinskih virusov ter so zato lahko nevarne gojenim rastlinam.

Mnoge gospodarsko pomembne vrste uši je morfološko zelo težko ločevati od sorodnih, manj škodljivih predstavnikov, ker je zanje značilen izrazit polimorfizem znotraj vrst in polifenizem. Poleg tega identifikacija včasih temelji na težko opaznih znakih (Cenis in sod., 1993; Turak in Hales, 1994). Še težavnejše je določevanje nižjih razvojnih stadijev listnih uši, za katere ni primernih določevalnih ključev. Natančna identifikacija je gospodarskega pomena še zlasti v intenzivni pridelavi zelenjave, sadja, okrasnih in drugih rastlin, ter ob najdbah neznanih potencialno škodljivih vrst listnih uši.

Molekularni pristop, kakršen je PCR (Polymerase Chain Reaction – verižna reakcija s polimerazo) je pogosto uporabljen pri identifikaciji težje določljivih organizmov. Pristop je uspešno vpeljan pri določevanju nekaterih skupin vrst nevretenčarjev in pri določevanju vrst na podlagi analize jajčec ali drugih nerazvitih oblik (Clark in sod., 2001; Carew in sod., 2003, 2005; Hebert in sod., 2004). Pristop je posebej uporaben v primerih, ko so morfološka in ekološka opazovanja nezadostna ter pri programih monitoringa, kjer ima hitrost identifikacije in natančnost poseben pomen.

V preteklem obdobju je bilo za potrebe določevanja vrst preučevanih več regij v genomu sorodnih vrst. Glavni namen je bil najti najprimernejšo regijo, na podlagi katere bi bilo določevanje osebkov zanesljivo. Jedrna rRNA, mitohondrijski citokrom b, citokrom oksidaza I ter II, so regije, ki so bile predlagane za standardne, za določevanje vrst osebkov in preučevanje njihove sorodnosti (Hebert in sod., 2003a, b; Tautz in sod., 2003). Končna izbira regije je odvisna od vrste preučevanih organizmov.

Prve genetske študije na ušeh so bile narejene na podlagi naključnega PCR-ja. S to metodo je mogoče določiti večje razlike med vrstami in znotraj njih (Black in sod., 1992; Cenis in sod., 1993). Uporabljen je bil tudi PCR-RFLP pristop (restriction fragment length polymorphism; Valenzuela in sod., 2007). Danes je v molekularni genetiki bolj razširjena sekvenčna analiza, s katero ugotavljamo zaporedje nukleotidov na določenem odseku. S tem pristopom je mogoče določiti tako odrasle osebkove kot tudi druge nižje razvojne stadije nevretenčarjev (Loxdale in Lushai, 1998).

V naši študiji smo analizirali najpogostejše vrste listnih uši, ki se pojavljajo predvsem na ječmenu, pšenici, krompirju in koruzi. V analizi smo skupaj analizirali 55 vzorcev uši. Preučevali smo 708 bp dolg odsek (gen za Citokrom oksidazo I) v mitohondrijski DNK. Z analizo smo želeli ugotoviti ali je regija ustrezna za določevanje vrst listnih uši in če se rezultati ujema z že objavljenimi. Zanimalo nas je tudi, če je komercialni kit, namenjen za izolacijo molekule DNK iz živalskih tkiv, ustrezen za izolacijo molekule DNK iz posameznega vzorca uši.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Zbiranje uši

Uši smo zbrali v letu 2008. Nabirali smo jih ročno iz različnih delov rastlin (cvetovi, listi, stebela). Uši so bile najprej morfološko identificirane, na podlagi morfoloških ključev (Blackman 1974; Blackman in Eastop 1985, Blackman in Eastop 1994, Taylor 1984.). Nato smo vzorce do začetka molekularnih analiz shranili v zamrzovalnik na -80 °C. Vsak osebek je bil shranjen v svoji epici, le v primerih, da so bili osebki iz iste kolonije, so bili le ti shranjeni v isti epici. Natančnejši podatki o nabranih vzorcih listnih uši so prikazani v preglednici 1.

Preglednica 1: Podatki o nabranih vzorcih listnih uši, ki smo jih uporabili v molekularni analizi.
Table 1: Data about collected aphids, which were included in the molecular analysis

Datum nabiranja	mesto nabiranja	gostiteljska rastlina	št. analiziranih osebkov
7. 5.	Ljubljana	<i>Ribes aciculare</i>	1
8. 5.	Ljubljana	<i>Pyrus malus</i>	3
8. 5.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	1
8. 5.	Sežana	<i>Lactuca sativa</i>	1
8. 5.	Sežana	<i>Pyrus malus</i>	1
8. 5.	Ravnje (KRAS)	<i>Prunus</i>	1
9. 5.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	4
14. 5.	Ljubljana	<i>Prunus avium</i>	1
14. 5.	Cerknica	<i>Fragaria vesca</i>	1
14. 5.	Vrtojba	<i>Amaranthus caudatus</i>	1
19. 5.	Stična	<i>Solanum tuberosum</i>	1
22. 5.	Seča	<i>Cynara scolymus</i>	1
23. 5.	Brdo pri Lukovici	<i>Fragaria vesca</i>	1
23. 5.	Brdo pri Lukovici	<i>Fragaria vesca</i>	1
29. 5.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	3
30. 5.	Mengeš	<i>Triticum aestivum</i>	3
2. 6.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	1
3. 6.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	1
4. 6.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	1
5. 6.	Stična	<i>Solanum tuberosum</i>	1
6. 6.	Stična	<i>Solanum tuberosum</i>	1
7. 6.	Stična	<i>Solanum tuberosum</i>	1
9. 6.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	1
10. 6.	Mengeš	<i>Hordeum sativum</i>	1
10. 6.	Ljubljana	<i>Pyrus malus</i>	1
14. 6.	Stična	<i>Solanum tuberosum</i>	1
16. 5.	Mengeš	<i>Triticum aestivum</i>	1
16. 5.	Šentvid pri stični	<i>Solanum tuberosum</i>	1
16. 6.	Ljubljana	<i>Zea mays</i>	6
16. 6.	Ljubljana	<i>Zea mays</i>	3
16. 6.	Ljubljana	<i>Cydonia vulgaris</i>	1
20. 6.	Kum	<i>Pyrus</i>	1
19. 6.	Sladki vrh	<i>Beta vulgaris</i>	1
20. 6.	Mengeš	<i>Hordeum sativum</i>	1
23. 6.	Žalec	<i>Pyrus malus</i>	1
23. 6.	Žalec	<i>Cydonia vulgaris</i>	1
10. 10.	Mozirski gaj	<i>Euphorbion</i>	1
11. 11.	Ljubljana	<i>Myosotis sp.</i>	1
28. 11.	Krško	<i>Pyrus malus</i>	1

2.2 DNA izolacija in PCR reakcija

Celotna DNK je bila iz vseh listnih uši izolirana z JETQUICH Tissue DNK Spin kit (Genomed, Nemčija) po nekoliko spremenjenem postopku, kot je opisan za izolacijo DNK iz mišjih repkov. Pridobljeno molekulo DNK smo do začetka analiz hranili v hladilniku. Z verižno reakcijo s polimerazo smo namnožili regijo, ki kodira gen za citokrom oksidazno podenoto I (COI) v mitohondrijski DNK. Uporabili smo začetna oligonukleotida LCO1490 in HCO2198

(Valenzula in sod., 2007). Amplifikacijske reakcije so potekale v 30 μ l reakcijskih mešanicah. PCR mešanica je vsebovala 2 μ L izolirane DNK, 10 μ M vsakega oligonukleotida, 1x pufer (10 mM Tris-HCl, 10 mM KCl), 1,5 mM MgCl₂, 1 mmol vsakega dNTP, 1 enota polimeraze (BIOTOOLS) ter vodo do končnega volumna.

PCR reakcija je potekala v cikličnem termostatu GeneAmp PCR System 9700 (PE Applied Biosystems) s sledečim temperaturnim profilom: 3 min na 94 °C, 40 ciklov s profilom: 45 s 94 °C, 30 s na 50 °C, 1 min 72 °C. Sinteza se je končala s 5 min na 72 °C. Uspešnost namnožitve regije smo preverjali tako, da smo 5 μ L produkta naložili na 1,5% agarozni gel, ki je vseboval etidijev bromid. Elektroforeza je tekla pri sobni temperaturi pod napetostjo 20-25 mA in 100-120 V. Po 30 minutah smo namnožene fragmente DNK opazovali pod transluminatorjem pri valovni dolžini 302 nm in ocenili dolžino fragmentov. Produkte z uspešno namnoženim odsekom smo sekvencirali.

2.3 Sekvenčna analiza DNK in obdelava rezultatov

Za postopek sekvenciranja smo uporabili oba primerja, tako da smo za vsak vzorec dobili dve nukleotidni zaporedji. Dobljeni zaporedji smo najprej pregledali in uredili s programom CHROMAS (ver. 1.41). V nadaljevanju smo nukleotidna zaporedja uvozili v program BioEdit (ver.: 7.0.5.3; Hall, 1999). Zaporedja smo poravnali s programom ClustalW (Thomson in sod., 1994) in jih najprej primerjali znotraj iste vrste, nato pa še med vrstami. Nazadnje smo urejena nukleotidna zaporedja, za posamezne vrste, primerjali z zaporedji, ki so naložene v elektronski banki GenBank na strani National Center of Biotechnology Information (NCBI) internetni naslov: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>).

Za iskanje podobnih nukleotidnih zaporedij v bazah podatkov GenBank, smo uporabili program BLAST (Basis Local Alignment Tool), ki se nahaja na internetnem naslovu <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>. Pri vsakem rezultatu smo bili pozorni na procent ujemanja sekvenc znotraj vrste in tudi na procent ujemanja med najbolj sorodnimi vrstami.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Rezultati

Z molekularno analizo smo identificirali 39 osebkov, ki so pripadali 19-tim različnim vrstami (Preglednica 2). Za ostalih 16 vzorcev uši vrste nismo mogli molekularno določiti, ker nukleotidnih zaporedij za te vrste v bazah podatkov še ni. Analizirane vrste so bile iz 15 rodov. Znotraj vrst smo ugotovili, da je polimorfizem manjši od 1.5%, med vrstami pa je bila vrednost polimorfizma med 3 in 13%.

Za vsak vzorec smo v bazah našli večje število nukleotidnih zaporedij, od katerih smo pregledali le tiste, ki so se najbolj skladale z našimi. V glavnem so bila ta zaporedja od istih in najbolj sorodnih vrst. V nekaterih primerih so se najdene sekvence, za isto vrsto uši, popolnoma skladale z našimi sekvencami, v nekaterih primerih, pa so se nukleotidna zaporedja razlikovala.

3.2 Razprava

Na podlagi dobljenih rezultatov potrjujemo, da je mogoče z uporabljenim kitom izolirati molekulo DNK iz posameznega vzorca uši in da je le ta ustrezna za nadaljnje molekularne analize. Potrdili smo tudi, da je regija COI dovolj variabilna in primerna za identifikacijo listnih uši. Z analizo smo ugotovili relativno visoko stopnjo polimorfizma med vrstami, znotraj vrst pa je bila vrednost manjša, vendar še vseeno razmeroma visoka. Z molekularno analizo smo potrdili 19 vrst. Ugotovili smo, da je regija COI primerna za razločevanje najpogostejših vrst listnih uši, za ostale manj pogoste in manj preiskovane vrste pa v

elektronski bazi nukleotidnih zaporedij še ni vnosov, zato pri teh vrstah molekularna identifikacija še ni mogoča. Zaradi tega, kot temeljna metoda določevanja ostaja morfološka identifikacija, tudi zaradi dejstva, da je molekularna identifikacija relativno draga. Molekularna identifikacija je ustrezna v primerih, ko potrebujemo potrditev morfološke identifikacije pogostejših vrst listnih uši, z morfološkimi identifikacijskimi ključi pa te osebke zaradi različnih vzrokov ni mogoče identificirati.

Preglednica 2: Molekularno identificirani vzorci listnih uši

Table 2: Molecular identified samples of aphids

datum	mesto nabiranja	gostiteljska rastlina	vrsta	št. osebkov
16.5.	Šentvid pri stični	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Acyrtosiphon pisum</i>	1
29.5.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Adelges laricis</i>	2
14.5.	Vrtojba	<i>Amaranthus caudatus</i>	<i>Aphis fabae</i>	1
22.5.	Seča	<i>Cynara scolymus</i>	<i>Aphis fabae</i>	1
16.6.	Ljubljana	<i>Zea mays</i>	<i>Aphis fabae</i>	2
19.6.	Sladki vrh	<i>Beta vulgaris</i>	<i>Aphis fabae</i>	1
23.5.	Brdo pri Lukovici	<i>Fragaria vesca</i>	<i>Aphis glycines*</i>	1
16.6.	Ljubljana	<i>Zea mays</i>	<i>Aphis gossypii</i>	1
2.6.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Aphis gossypii</i>	1
10.10.	Mozirski gaj	<i>Euphorbia</i>	<i>Aphis nerii</i>	1
10.6.	Ljubljana	<i>Pyrus malus</i>	<i>Aphis spiraecola</i>	1
16.6.	Ljubljana	<i>Cydonia vulgaris</i>	<i>Aphis spiraecola</i>	1
23.6.	Žalec	<i>Pyrus malus</i>	<i>Aphis spiraecola</i>	1
11.11.	Ljubljana	<i>Myosotis</i> sp.	<i>Aulacorthum solani</i>	1
8.5.	Ravnje (KRAS)	<i>Prunus</i>	<i>Brachycaudus helichrysi</i>	1
9.5.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Brachycaudus helichrysi</i>	1
9.5.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Cavariella theobaldi</i>	1
14.5.	Cerknica	<i>Fragaria vesca</i>	<i>Chaetosiphon fragaefolii</i>	1
7.5.	Ljubljana	<i>Ribes aciculare</i>	<i>Cryptomyzus ribis</i>	1
8.5.	Sežana	<i>Pyrus malus</i>	<i>Dysaphis plantaginea</i>	1
8.5.	Ljubljana	<i>Pyrus malus</i>	<i>Dysaphis plantaginea</i>	1
16.6.	Ljubljana	<i>Zea mays</i>	<i>Ephedrus plagiator*</i>	1
8.5.	Ljubljana	<i>Pyrus malus</i>	<i>Eriosoma lanigerum</i>	2
6.6.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Macrosiphoniella leucanthemi</i>	1
14.5.	Ljubljana	<i>Prunus avium</i>	<i>Myzus cerasi</i>	1
14.6.	Stična	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Myzus cerasi</i>	1
8.5.	Sežana	<i>Lactuca sativa</i> L.	<i>Nasonovia ribisnigri</i>	1
8.5.	Libeliče	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Nasonovia ribisnigri</i>	1
16.6.	Ljubljana	<i>Zea mays</i>	<i>Rhopalosiphum maidis</i>	2
16.6.	Ljubljana	<i>Zea mays</i>	<i>Rhopalosiphum padi</i>	1
20.6.	Mengeš	<i>Hordeum sativum</i>	<i>Rhopalosiphum padi</i>	1
16.5.	Mengeš	<i>Triticum aestivum</i>	<i>Sitobion avenae</i>	1
30.5.	Mengeš	<i>Triticum aestivum</i>	<i>Sitobion avenae</i>	3
10.6.	Mengeš	<i>Hordeum sativum</i>	<i>Sitobion avenae</i>	1
16.6.	Ljubljana	<i>Zea mays</i>	<i>Sitobion avenae</i>	1

* parazitoid iz družine Braconidae

4 SKLEPI

Komercialni kit JETQUICH Tissue DNK Spin kit (Genomed, Nemčija) je ustrezen za izolacijo molekule DNK iz posamezne listne uši. Regija COI je ustrežna za razločevanje pogostejših vrst listnih uši. Ostale vrste listnih uši bo mogoče molekularno identificirati, ko bodo v baze podatkov vnesena tudi nukleotidna zaporedja teh vrst uši.

5 LITERATURA

- Blackman R. 1974. Aphids. Great Britain by Tinling. 175.
- Blackman R.L., Eastop V.F. 1994. Aphids on the world's trees.. University Press, Cambridge, US. 987.
- Blackman R.L., Eastop, V.F. 1985. Aphids on the world's crops. An identification guide. The Bath Press, Avon. 466.
- Black W. C., DuTeau N. M., Puterka G. J., Nechols J. R., Pettorini J. M. 1992. Use of the random amplified polymorphis DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) to detect DNA polymorphism in aphids (HOMOPTERA: Aphididae). Bulletin of entomological research 82, 151-159
- Blackman R. L., Eastop V. F. 2000. Aphids on the World's Crops: An identification and information guide, 2en edition. John Wiley and Sons Ltd, Chichester, Anglija
- Carew M. E., Pettigrove V., Hoffmann A. A. 2003. Identifying chironomids (Diptera: Chironomidae) for biological monitoring with PCR-RFLP. Bulletin of Entomological research 93, 482-490
- Carew M. E., Pettigrove V., Hoffmann A. A. 2005. The utility od DNA markers in classical taxonomy: Cytochrome Oxidase I markers to differentiate Australian Cladopelma (Diptera: Chironomidae) midges. Annals of the entomological society of America 98, 587-594
- Cenis J. L., Perez P., Fereres A., 1993. Identification of aphid (Homoptera: Aphididae) species and clones by random amplified polymorphic DNA. Annals Entomology Society of America 86, 545-550.
- Clark T. L., Meinke L. J., Foster J. E. 2001. PCR Rflp of the mitochondrial cytochrome oxidase (subunit I) gene provides diagnostic marker for selected *Diabrotica* species (Coleoptera: Chrysomelidae) Bulletin of Entomological research 91, 419-427
- Hall, T.A. 1999. BioEdit:A-user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41:95-98.
- Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L., deWaard J. R. 2003a. Biological identification through DNA barcodes. Proceedings of the royal society of London b. 270, 313- 321.
- Hebert P. D. N., Ratnasingham S., deWaard J. R. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species. Proceedings of the royal society of London B. 270, S96-S99.
- Hebert P. D. N., Penton E. H., Burns J. M., Janzen D. H., Hallwachs W. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the Neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101, 14812-14817.
- Loxdale, H.D., Lushai, G. 1998. Molecular markers in entomology (Review). Bulletin of Entomological Research 88, 577 - 600.
- Modic Š., Urek G. 2008. Prispevek k poznavanju favne listnih uši (Sternorrhyncha: Aphidoidea) Slovenije. Acta Entomologica Slovenica, 16, 1: 87 - 97.
- Petrović-Obradović, O. 2003: Biljne vaši (Homoptera: Aphididae) Srbije. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu. 153 str.
- Remaudiere, G., Remaudiere, M. 1997: Catalogue of the World's Aphididae. INRA Editions, Paris. 473 str.
- Tautz D., Arctander P., Minelli A., Thomas R. H., Volger A. P. 2003. A plea dor dna taxonomy. Trends in ecology and evolution 18, 70-74.
- Taylor L.R. 1984. A handbook for aphid identification manuel d'identification des pucerons. C.E.C., D.G., VI Dir. F - Div. 4. Integrated and biological control programe. 171.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J. (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research, submitted, June 1994.
- Turak E., Hales D. F., 1994. An allozyme method for identifying individual aphids of morphologically similar taxa (Hemiptera: Aphididae). Journal of the Australian entomological society 33, 57-59
- Valenzula I., Hoffmann A.A., Malipatil M. B., Ridland P. M., Weeks A. R. 2007. Identification of aphid species (Hemiptera: Aphididae: Aphidinae) using a rapid polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism method based on the cytochrome oxidase subunit I gene. Australian journal of entomology, 46: 305-312

THE SCALE INSECTS (HEMIPTERA: COCCOIDEA) OF IMPORTED FRUITS IN CROATIA

Tatjana MASTEN MILEK¹, Mladen ŠIMALA², Bogdan KORIĆ³

^{1,2,3}Institute for plant protection in agriculture and forestry of Republic of Croatia

ABSTRACT

This paper deals with the scale insects of imported fresh fruits in supermarkets in Croatia which have been monitored during a three year investigation (2006-2008). Inspections have resulted in 18 identified scale species. Species *Abgrallaspis cyanophylli*, *A. comperei*, *Diaspis boisduvalii*, *D. brevipes*, *Melanaspis bromiliae*, *Parlatoria cinerea*, *P. pergandii*, *P. trilobitiformis* and *Selenaspis articulatus* are newly recorded species in Croatia. The most inspected consignments were from Brazil, Costa Rica, Greece, Chile and Spain. *A. aurantii* at the first place, then *Lepidosaphes beckii*, *P. oleae*, *P. pergandii* and *P. ziziphi* had the highest appearing frequency. The most frequent host plants belong to the family Rutaceae.

Key words: scale insects, imported fresh fruits, supermarkets, Croatia

1 INTRODUCTION

Scale insects (Coccoidea) enjoy perennial plants and can devastate nut and fruit trees, greenhouse plants, forest vegetation, woody ornamentals and house plants. They thrive on nearly all parts of host plants, sometimes settle under bark, and cause a variety of plant deformities. They disperse passively with the aid of wind, water, soil, humans and domestic and wild animals. Global trade has been a major factor in their spread worldwide. The main pathway of scale's worldwide spread is import of plant material and fresh fruits. Last Croatian check list of scale insects includes 132 species (Masten Milek, 2007). Many of them were introduced in Croatia by global trade.

2 MATERIAL AND METHODS

Inspection on scale insects of imported fresh fruits in supermarkets in Croatia were carried out over a 3 year period (2006-2008) by visual inspections of potentially infested fruit with the help of a 10x magnification lens. Fruits (as a host plant material) infested with scale insects were collected in plastic bags. Each sample was labelled with details about the host plant, damage symptoms, collector, sample number, date and the locality. The collected specimens were slide mounted under the dissecting stereo microscope, according to methods of Wilkey (1990) and Watson & Chandler (1999). The microscopic morphological characters of adult female were studied using the keys of MacGillivray (1921); McKenzie (1938, 1945, 1967); Borchsenius (1949); Balachowsky (1953, 1954); Williams & Watson (1988a, 1988b); Gill (1997); Williams (2004); Miller & Davidson (2005).

Fifty samples of fresh fruit were inspected. They were imported from Argentina, Brazil, Chile, China, Greece, Israel, Italy, South Africa, South America, Costa Rica, Mexico and Spain.

¹ Ph. D., Svetošimunska 25, HR-10000 Zagreb, Croatia

² Ph. D., ibid.

³ Ph. D., ibid.

3 RESULTS AND DISSCUSION

Inspections have resulted in 18 identified scale species (Tab. 1 and Tab. 2), namely from family Diaspididae: *Abgrallaspis cyanophylli* (Signoret, 1869); *Aonidiella aurantii* (Maskell, 1879); *Aonidiella comperei* McKenzie, 1937; *Chrysomphalus aonidum* (Linnaeus, 1758); *Diaspis boisduvalii* Signoret, 1869; *Hemiberlesia lataniae* (Signoret, 1869); *Lepidosaphes beckii* (Newman, 1869); *Lepidosaphes gloverii* (Packard, 1869); *Melanaspis bromiliae* (Leonardi, 1899); *Parlatoria cinerea* Hadden in Doane & Hadden, 1909, *Parlatoria oleae* (Colveé, 1880); *Parlatoria pergandii* Comstock, 1881; *Parlatoria ziziphi*, (Lucas, 1853); *Pinnaspis aspidistrae* (Signoret, 1869); *Pseudaonidia trilobitiformis* (Green, 1896); *Selenaspis articulatus* (Morgan, 1889) and from family Pseudococcidae: *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) and *Pseudococcus comstocki* (Kuwana, 1902). Species *A. cyanophylli*, *A. comperei*, *D. boisduvalii*, *D. brevipes*, *M. bromiliae*, *P. cinerea*, *P. pergandii*, *P. trilobitiformis* and *S. articulatus* are newly recorded species in Croatia. It should be pointed out that the most scale insects were alive in samples of imported fruits. The most consignments were from Brazil, Costa Rica, Greece, Chile and Spain. The most frequent host plants belong to the family Rutaceae.

Quantitative distribution of scale insect appearing frequency of imported fresh fruits in supermarkets is shown in fig 1. *A. aurantii* at the first place, then *L. beckii*, *P. oleae*, *P. pergandii* and *P. ziziphi* had the highest appearing frequency.

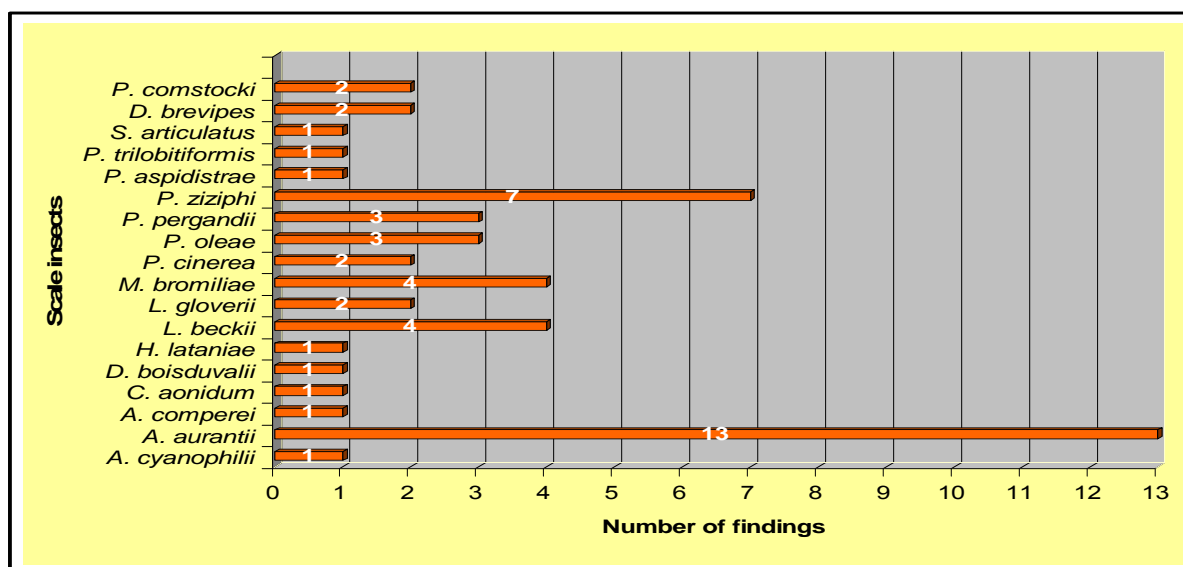


Figure 1: Quantitative distribution of scale insects appearing frequency

Table 1: Determined scale insects of family Pseudococcidae on imported fresh fruits in supermarkets in Croatia in period 2006-2008

SCALE INSECT	FAMILY PLANT	HOST PLANT	DATE	COUNTRY OF ORIGIN
<i>Dysmicoccus brevipes</i> (Cockerell, 1893)	Bromeliaceae	<i>Ananas sativus</i> Mill.	6. 3. 2006.	Costa Rica
		<i>Ananas sativus</i> Mill.	19. 4. 2006.	Costa Rica
<i>Pseudococcus comstocki</i> (Kuwana, 1902)	Rosaceae	<i>Pyrus communis</i> L.	15. 12. 2007.	China
		<i>Pyrus communis</i> L.	20. 2. 2008.	China
2 SPECIES OF SCALE INSECTS	2 FAMILIES OF HOST PLANTS	2 HOST PLANTS	-	2 COUNTRIES OF ORIGIN

Table 2: Determined scale insects of family Diaspididae on imported fresh fruits in supermarkets in Croatia in period 2006-2008

SCALE INSECT	FAMILY OF HOST PLANT	HOST PLANT	DATE	COUNTRY OF ORIGIN
<i>Abgrallaspis cyanophylli</i>	Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	12. 3. 2008.	Brazil
<i>Aonidiella aurantii</i>	Rutaceae	<i>Citrus aurantiifolia</i>	2. 12. 2008.	Brazil
		<i>Citrus limon</i>	19. 10. 2007.	Argentina
		<i>Citrus limon</i>	20. 2. 2008.	Spain
		<i>Citrus limon</i>	2. 12. 2008.	South Africa
		<i>Citrus maxima</i>	19. 10. 2007.	Israel
		<i>Citrus paradisi</i>	15. 12. 2007.	South America
		<i>Citrus paradisi</i>	12. 3. 2007.	South America
		<i>Citrus sinensis</i>	19. 10. 2007.	Greece
		<i>Citrus sinensis</i>	15. 12. 2007.	Greece
		<i>Citrus sinensis</i>	5. 3. 2008.	Greece
		<i>Citrus sinensis</i>	14. 5. 2008.	Spain
<i>Citrus sinensis</i>	2. 12. 2008.	Greece		
<i>Citrus sinensis</i>	22. 12. 2008.	Spain		
<i>Aonidiella comperei</i>	Caricaceae	<i>Carica papaya</i>	2. 12. 2008.	Brazil
<i>Chrysomphalus aonidum</i>	Rutaceae	<i>Citrus aurantiifolia</i>	2. 12. 2008.	Brazil
<i>Diaspis boisduvalii</i>	Bromeliaceae	<i>Ananas sativus</i> Mill.	6. 3. 2006.	Costa Rica
<i>Hemiberlesia lataniae</i>	Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	12. 3. 2008.	Brazil
<i>Lepidosaphes beckii</i>	Rutaceae	<i>Citrus aurantiifolia</i>	3. 11. 2008.	Brazil
		<i>Citrus limon</i>	2. 12. 2008.	Italy
		<i>Citrus maxima</i>	19.10.2007.	Israel
		<i>Citrus sinensis</i>	12. 5. 2008.	Greece
<i>Lepidosaphes gloverii</i>	Rutaceae	<i>Citrus aurantiifolia</i>	12. 3. 2008.	Mexico
		<i>Citrus aurantiifolia</i>	2. 12. 2008.	Brazil
<i>Melanaspis bromiliae</i>	Bromeliaceae	<i>Ananas sativus</i>	20. 2. 2008.	Costa Rica
		<i>Ananas sativus</i>	5. 3. 2008.	Brazil
		<i>Ananas sativus</i>	12. 3. 2008.	Costa Rica
		<i>Ananas sativus</i> .	12. 11. 2008.	Costa Rica
<i>Parlatoria cinerea</i>	Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	12. 3. 2008.	Brazil
	Rutaceae	<i>Citrus aurantiifolia</i>	2. 12. 2008.	Brazil
<i>Parlatoria oleae</i>	Rutaceae	<i>Citrus aurantiifolia</i>	5. 3. 2008.	Chile
		<i>Citrus aurantiifolia</i>	12. 3. 2008.	Mexico
		<i>Citrus limon</i> (L.)	20. 2. 2008.	Spain
<i>Parlatoria pergandii</i>	Rutaceae	<i>Citrus limon</i> (L.)	20. 2. 2008.	Spain
		<i>Citrus aurantiifolia</i>	2. 12. 2008.	Brazil
		<i>Fortunella</i> sp.	5. 12. 2008.	South Africa
<i>Parlatoria ziziphi</i>	Rutaceae	<i>Citrus aurantiifolia</i>	5. 3. 2008.	Chile
		<i>Citrus aurantiifolia</i>	12. 3. 2008.	Mexico
		<i>Citrus aurantiifolia</i>	15. 5. 2008.	Chile
		<i>Citrus aurantiifolia</i>	12. 11. 2008.	Chile
		<i>Citrus limon</i>	19. 10. 2007.	Argentina
		<i>Citrus limon</i>	20. 2. 2008.	Spain
<i>Citrus limon</i>	21. 10. 2008.	South Africa		
<i>Pinnaspis aspidistrae</i>	Rutaceae	<i>Citrus aurantiifolia</i>	2. 12. 2008.	Brazil
<i>Pseudaonidia trilobitiformis</i>	Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	14. 10. 2008.	Brazil
<i>Selenaspis articulatus</i>	Rutaceae	<i>Citrus aurantiifolia</i>	5. 3. 2008.	Chile
16 SPECIES OF SCALE INSECTS	4 FAMILIES OF HOST PLANTS	8 HOST PLANTS	-	11 COUNTRIES OF ORIGIN

4 CONCLUSIONS

Three year inspection (2006 - 2008) on scale insects of imported fresh fruits in supermarkets in Croatia showed that global trade is one of the major factor in spread of scale insects worldwide. In fifty samples of fresh fruits it was found 18 different species of scale insects. The most specimens were alive. Nine of them are a new alien species introduced in Croatia. Croatia belongs to the Mediterranean basin with very suitable climatic conditions for scales development. Mediterranean flora is very rich with different species of plants as a potential host plants of many scales. It is not known if this newly recorded species of scale insects could be a threat to some plants grown outdoors in Croatia. Moreover, a Pest Risk Analysis (PRA) for this pests is recommended.

5 ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to Prof. dr. sc. Giuseppina Pellizzari from Dipartimento di Agronomia Ambientale e Produzioni vegetali, Università di Padova, Italy and to M. sc. Gabrijel Seljak from Agriculture and Forestry Institute Nova Gorica, Slovenia, who confirmed the our identifications of scale insects.

6 REFERENCES

- Balachowsky, A. S. 1953. Les cochenilles de France, d'Europe, du nord de l'Afrique et du bassin méditerranéen. VII-Monographie des Coccoidea: Diaspidinae-IV, Odonaspadini-Parlatorini, Actualités Sci. Indus. Ent. Appl. 1202: 725-929
- Balachowsky, A. S. 1954. Les cochenilles paléarctique de la tribu des Diaspidini. Mem. Inst. Pasteur Sci.: 450 pp.
- Ben-Dov, Y., Miller, D.R. & Gibson, G.A.P. 2008. ScaleNet: a database of the scale insects of the world. Available from <http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/scalenet.htm>
- Borchsenius, N. S. 1949. Insects Homoptera, Suborders mealybugs and scales (Coccoidea), Family mealybugs (Pseudococcidae), Vol. VII, Fauna SSSR, Zoologicheskii Institut Akademii Nauk SSSR. N.S., 38: 1-382.
- Gill, R. J. 1997. The Scale Insects of Calironia. Part III: The Armoured scales (Homoptera: Coccoidea: Diaspididae). California Department of Food and Agriculture, Sacramento: 307 pp.
- MacGillivray, A. D. 1921. The Coccidae, Tables for the identification of the subfamilies and some of the more important genera and species together with discussions of their anatomy and life history, Urbana, Illinois: 502 pp.
- McKenzie, H. L. 1967. Mealybugs of California with taxonomy, biology, and control of North American species (Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae). Univ. Calif. Press, Berkeley: 526 pp.
- Masten Milek, T. 2007. Fauna štitarstih uši (Insecta: Coccoidea) u Republici Hrvatskoj. Doktorska disertacija, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Poljoprivredni fakultet u Osijeku: 242 pp.
- McKenzie, H. L. 1938. The genus *Aonidiella* (Homoptera, Coccoidea, Diaspididae): Microentomol., 3: 1-36
- McKenzie, H. L. 1946. Supplementary on the genera *Aonidiella* and *Parlatoria* (Homoptera: Coccoidea: Diaspididae). Microentomology, 11: 29-36
- Miller, D. R. & Davidson, J. A. 2005. Armored scale insect pests of trees and shrubs. Cornell University Press, New York: 442 pp.
- Watson, G. W., Chandler, L. R. 1999. Identification of Mealybugs important in Caribbean Region., Commonwealth Science Council and CAB International: 5-39
- Wilkey, R. F. 1990. 1.5 Techniques. 1.5.1 Collection, Preservation and microslide mounting. 345-352 In Rosen, D. (Ed.). Armored Scale Insects. Their Biology, Natural Enemies and Control. World Crop Pests, Vol. 4A. Elsevier, Amsterdam: 384 pp.
- Williams, D. J. 2004. The Mealybugs of Southern Asia. The Natural History Museum, Kuala Lumpur, Southdene: 896 pp.
- Williams, D. J., Watson, G. W. 1988a. The Armoured Scales (Diaspididae) Part 1. The Scale Insects of the Tropical South Pacific Region, CAB International Institute of Entomology: 289 pp.
- Williams, D. J., Watson, G. W. 1988b. The Mealybugs (Pseudococcidae) Part 2. The Scale Insects of the Tropical South Pacific Region, CAB International Institute of Entomology: 260 pp.

WHITEFLY SPECIES (Hemiptera: Aleyrodidae) RECORDED ON IMPORTED ORNAMENTAL PLANTS IN CROATIA FROM 2005–2008

Mladen ŠIMALA¹, Tatjana MASTEN MILEK², Bogdan KORIC³

^{1,2,3}Institute for plant protection in agriculture and forestry of Republic of Croatia

ABSTRACT

During the last decade worldwide trade in plants has increased enormously. Because of increased import of different ornamentals in the last years, possibility of interception of new whitefly species has increased too. That was the main reason of inspections of imported ornamental plants in the nurseries and greenhouses carried out over a 4 year period (2005 – 2008). It was collected 152 leaf samples. Whiteflies were collected using the visual survey of host plant leaves on presence of their puparia or pupal cases. All collected whiteflies in leaf samples were identified to the species level. Inspections carried out on consignments originating from 5 European countries, mostly from The Netherlands, and also from Japan, have resulted in 9 identified whitefly species: *Aleuroclava hikosanensis* Takahashi, 1938, *Aleuroclava jasmini* Takahashi, 1932, *Aleurothrixus floccosus* Maskell, 1896, *Aleyrodes elevatus* Silvestri, 1934, *Bemisia afer* Priesner & Hosny, 1934, *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889, *Dialeurodes citri* Ashmead, 1885, *Massilieuodes chittendeni* Laing, 1928 and *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, 1856. The species which has the highest distribution of frequency was *T. vaporariorum*. It was present in the most of collected leaf samples. The next most frequent species was *B. tabaci*, the species recently introduced to Croatia. Species *A. elevatus* and *D. citri* are already well established in the nature in coastal part of Croatia. Species *B. afer* is an indigenous species widespread throughout the country. Species *A. floccosus* is currently present only on limited area of Croatian Middle Adriatic region. Species *A. hikosanensis*, *A. jasmini* and *M. chittendeni* are newly recorded species for Croatia. These are all non European whitefly species. Only the species *M. chittendeni*, which probably originates in northern Asia is distributed in some European countries. Their possibility of naturalization in Croatia is not known. For this reason, a Pest Risk Analysis for these pests is strongly suggested.

Key words: Aleyrodidae, Croatia, imported ornamentals, whiteflies

1 INTRODUCTION

Whiteflies belong to the order Hemiptera and comprise a single superfamily, Aleyrodoidea, within the suborder Sternorrhyncha. They are all placed in a single family, Aleyrodidae, and are small sap-sucking, usually inconspicuous insects. An updated latest check list of the world's extant whitefly species comprises 1556 species from 161 genera (Martin & Mound, 2007). According to Martin *et al.* (2000) the whitefly fauna of Europe and the Mediterranean Basin comprises 56 species that are considered to be native or naturalized, accommodated within 25 genera.

Whiteflies are very important pests of numerous agricultural crops. In Europe, they cause the highest economical damages on vegetable and ornamental plant species, especially in greenhouses as well as on citrus. They are also the pests of different trees and shrubs.

¹ Dr. sc., Svetošimunska cesta 25, HR-10040 Zagreb, Croatia

² Dr. sc., *ibid.*

³ Dr. sc., *ibid.*

During the last decade worldwide trade in plants has increased enormously. Because of increases import of different ornamentals in the last years, possibility of interception of new whitefly species has increased too. That was the main reason of inspections of imported ornamental plants on presence of whiteflies in the nurseries and greenhouses, carried out from 2005-2008. Inspections carried out on consignments originating from European countries, and also from Japan, have resulted in 9 identified whitefly species.

2 MATERIALS AND METHODS

Inspections of imported ornamental plants on presence of whiteflies were carried out in the nurseries and greenhouses in Croatia in period 2005-2008. Whiteflies were collected with the use of a visual survey of host plant leaves with the help of a magnifying lens of 10 x magnification for the presence of puparia or pupal cases. Host plants were identified and systematized according to Wickham (1977), Šilić (1990) Noordhuis (1993), Quattrocchi (2000) and Yamamori & Taaffe (2004), but also for some of them our own observations were used. The leaf samples were placed and stored by the dry method in an envelope until whitefly preparation (Martin, 1987; 1999).

All collected whiteflies in leaf samples were identified to the species level on the basis of morphological characters of puparium and/or pupal case, using the classical identification method according to relevant morphological keys. Whitefly puparia and pupal cases were slide-mounted in Canada balsam as permanent microscopic slides according to a modified Watson & Chandler (1999) method and labelled with all data relevant for faunistic entry. For the identification the following keys were used: Takahashi (1952; 1954), Mound (1966), Habib & Farag (1970), Martin (1985; 1987; 1999), Bink-Moenen & Gerling (1990), Mifsud (1995) and Martin *et al.* (2000). For an accurate identification, a stereomicroscope (Nikon SMZ 800) and a compound microscope (Olympus BX 50) were employed.

The localities of finding of recorded whitefly species were marked using geography coordinates and according to the Universal Transverse Mercator coordinate system (Horvat *et al.*, 2003). Verification of all identifications of whitefly species recorded by investigations was done by M.G.M. Jansen (Plant Protection Service, Wageningen, The Netherlands).

3 RESULTS AND DISCUSSION

Inspections of imported ornamental plants on presence of whiteflies during four years investigations (2005-2008) were conducted on totally 15 localities in 10 counties of Republic of Croatia. Total number of analysed whitefly samples collected from plant material was 152 on 52 different species of host plants from 31 families. Inspections were carried out on consignments originating from 5 European countries (Hungary, Italy, The Netherlands, Portugal and Spain) and also from one non European country, Japan (Figure 1). The most consignments were originated from The Netherlands (79,61 %), what is understandable, because it is the most significant exporter of ornamental plants for Croatia.

The microscopic identification of whiteflies recorded on collected plant leaves resulted in 9 identified species from 7 different genera: *Aleuroclava hikosanensis* Takahashi, 1938, *Aleuroclava jasmini* Takahashi, 1932, *Aleurothrixus floccosus* Maskell, 1896, *Aleyrodes elevatus* Silvestri, 1934, *Bemisia afer* Priesner & Hosny, 1934, *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889, *Dialeurodes citri* Ashmead, 1885, *Massilieuodes chittendeni* Laing, 1928 and *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, 1856 (Figure 2).

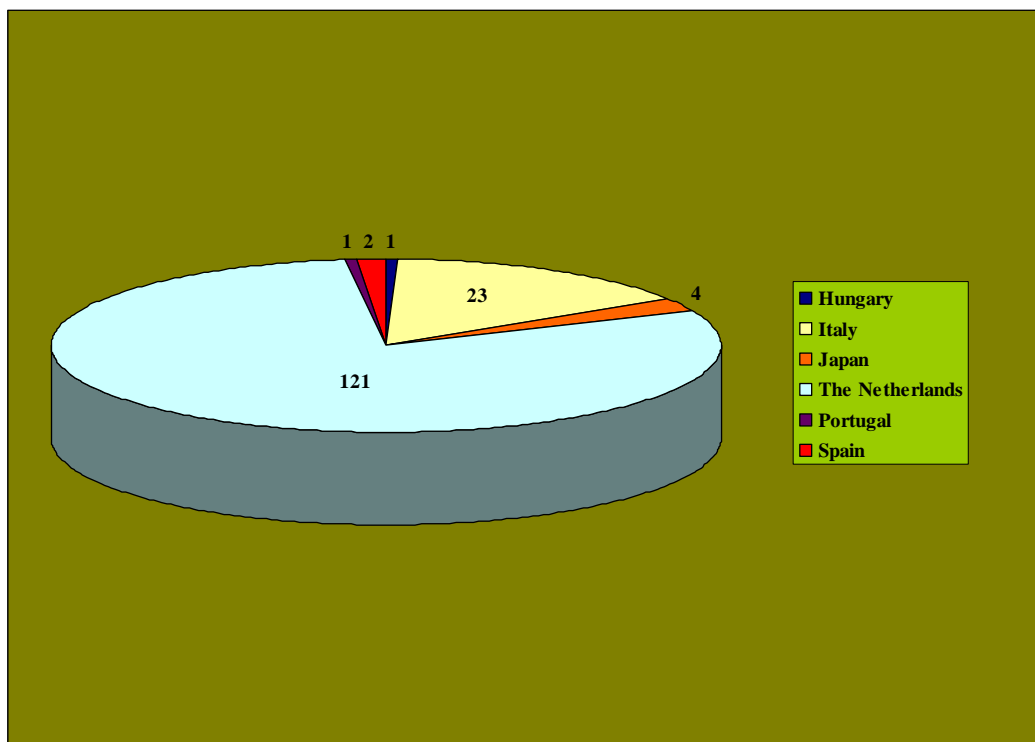


Fig. 1: Origin of imported plant material and number of samples in which whiteflies were recorded (2005-2008).

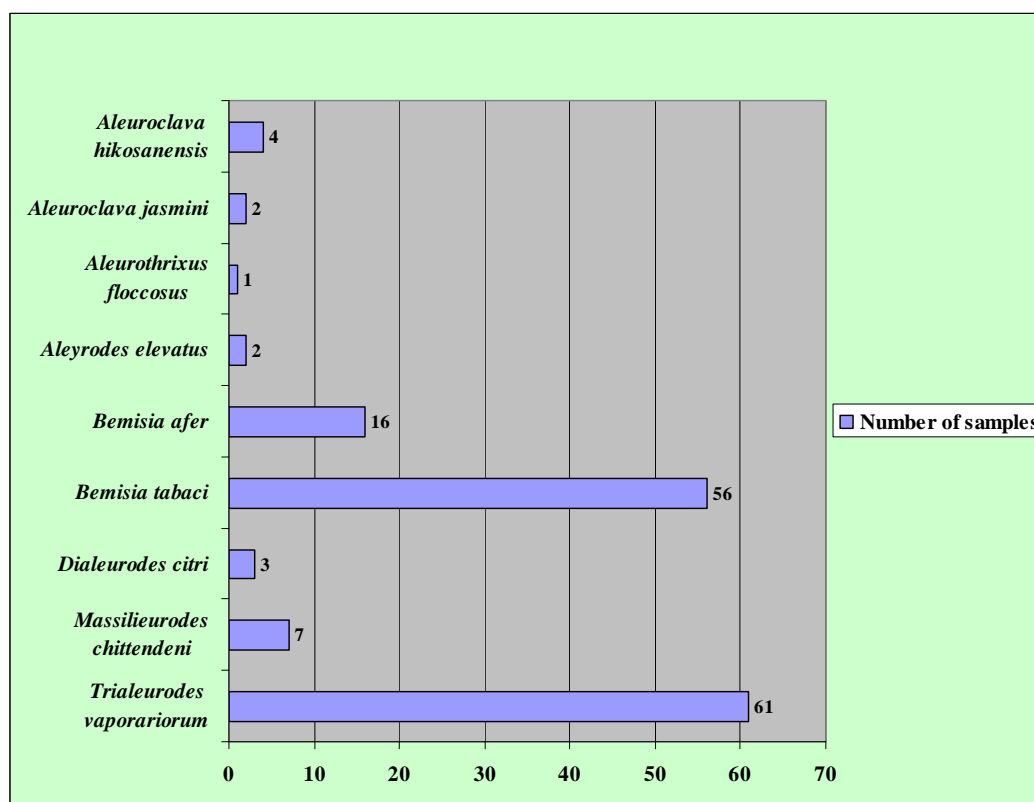


Fig. 2: Whitefly species identified in imported consignments (2005-2008).

T. vaporariorum, often called the glasshouse whitefly, was present in most of 152 collected samples. This cosmopolite and extremely polyphagous pest species was detected in 40,13 % of the leaf samples (Figure 2). It is the most common and widespread whitefly species in Croatia (Šimala, 2008). The next most frequent species was recently introduced to Croatia, *B. tabaci* (Žanić *et al.*, 2001). It was identified during the inspections in 36,84 % of the analysed leaf samples (Figure 2) on 13 localities (Table 1). *B. tabaci* possibly originated in India (Fishpool & Burban, 1994) and as a result of widespread dispersal, particularly during the last 20 years, it is now distributed nearly worldwide.

Table 1: Finding places of recorded whitefly species in imported plant material (2005-2008).

WHITEFLY SPECIES	LOCALITY	GEOGRAPHY COORDINATE	UTM
<i>Aleuroclava hikosanensis</i>	Lučko	45°45'43" N 15°53'48" E	33T WL6867
	Turanj	43°58'10" N 15°24'26" E	33T WJ3368
<i>Aleuroclava jasmini</i>	Lučko	45°45'43" N 15°53'48" E	33T WL6867
	Pula	44°52'07" N 13°50'58" E	33T VK0969
<i>Aleurothrixus floccosus</i>	Turanj	43°58'10" N 15°24'26" E	33T WJ3368
<i>Aleyrodes elevatus</i>	Dubrovnik	42°39'13" N 18°05'42" E	34T BN6126
	Pula	44°52'07" N 13°50'58" E	33T VK0969
<i>Bemisia afer</i>	Lučko	45°45'43" N 15°53'48" E	33T WL6867
	Metković	43°03'04" N 17°39'05" E	33T YH1670
	Pula	44°52'07" N 13°50'58" E	33T VK0969
	Split	43°30'45" N 16°26'32" E	33T XJ1919
	Turanj	43°58'10" N 15°24'26" E	33T WJ3368
	Umag	45°25'52" N 13°31'26" E	33T UL8432
	Varaždin	46°18'41" N 16°20'16" E	33T XM0329
	Zagreb	45°47'39" N 15°57'27" E	33T WL7772
<i>Bemisia tabaci</i>	Dubrovnik	42°39'13" N 18°05'42" E	34T BN6126
	Gaženica	44°05'29" N 15°16'07" E	33T WJ2281
	Knežine	43°32'26" N 16°18'34" E	33T XJ0722
	Lučko	45°45'43" N 15°53'48" E	33T WL6867
	Magadenovac	45°32'30" N 17°57'22" E	34T BR8160
	Metković	43°03'04" N 17°39'05" E	33T YH1670
	Pula	44°52'07" N 13°50'58" E	33T VK0969
	Split	43°30'45" N 16°26'32" E	33T XJ1919
	Štefanec	46°22'22" N 16°29'45" E	33T XM1536
	Turanj	43°58'10" N 15°24'26" E	33T WJ3368
	Umag	45°25'52" N 13°31'26" E	33T UL8432
	Ušići Dvori	44°52'51" N 13°57'47" E	33T VK1773
	Zagreb	45°47'39" N 15°57'27" E	33T WL7772
	<i>Dialeurodes citri</i>	Pula	44°52'07" N 13°50'58" E
<i>Massilieuodes chittendeni</i>	Lučko	45°45'43" N 15°53'48" E	33T WL6867
	Split	43°30'45" N 16°26'32" E	33T XJ1919
	Štefanec	46°22'22" N 16°29'45" E	33T XM1536
<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	Dubrovnik	42°39'13" N 18°05'42" E	34T BN6126
	Lučko	45°45'43" N 15°53'48" E	33T WL6867
	Magadenovac	45°32'30" N 17°57'22" E	34T BR8160
	Metković	43°03'04" N 17°39'05" E	33T YH1670
	Novaki	45°38'40" N 15°37'07" E	33T WL4337
	Pula	44°52'07" N 13°50'58" E	33T VK0969
	Split	43°30'45" N 16°26'32" E	33T XJ1919
	Turanj	43°58'10" N 15°24'26" E	33T WJ3368
	Ušići Dvori	44°52'51" N 13°57'47" E	33T VK1773
	Varaždin	46°18'41" N 16°20'16" E	33T XM0329
Zagreb	45°47'39" N 15°57'27" E	33T WL7772	

Another broadly polyphagous species from genus *Bemisia*, *B. afer* was frequent and was recorded in 10,53 % of the leaf samples taken from imported ornamental plants (Figure 2). *B. afer* has been detected on several occasions on imported plant material in Croatia, but only on bay plants (*Laurus nobilis* L.) from Italy and Spain (Table 2).

Table 2 Host plants of recorded whitefly species in imported plant material (2005-2008).

WHITEFLY SPECIES	PLANT FAMILY	PLANT SPECIES	YEAR OF FINDING
<i>Aleuroclava hikosanensis</i>	Aquifoliaceae	<i>Ilex crenata</i> Thunb.	2005, 2006, 2007
<i>Aleuroclava jasmini</i>	Rubiaceae	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	2007
<i>Aleurothrix floccosus</i>	Rutaceae	<i>Citrus limonum</i> L.	2008
<i>Aleyrodes elevatus</i>	Moraceae	<i>Ficus carica</i> L.	2007, 2008
<i>Bemisia afer</i>	Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i> L.	2005, 2006, 2007, 2008
<i>Bemisia tabaci</i>	Acanthaceae	<i>Crossandra buntingii</i> S. Moore	2006
	Apocynaceae	<i>Dipladenia</i> A. DC. sp.	2007
		<i>Mandevilla</i> sp.	2008
		<i>Nerium oleander</i>	2005
		Asteraceae	<i>Helianthus annuus</i> L.
	Bignoniaceae	<i>Campsis radicans</i> (L.) Seem.	2005, 2008
	Euphorbiaceae	<i>Acalypha hispida</i> Burm. f.	2007
		<i>Euphorbia milii</i> Desmoul	2005, 2006
		<i>Ricinus communis</i> L.	2005
	Labiatae	<i>Ajuga reptans</i> L.	2005
		<i>Callicarpa bodinieri</i> H. Leveille	2007
	Malvaceae	<i>Abutilon</i> Miller x <i>hybridum</i> hort.	2005, 2008
		<i>Abutilon striatum</i> G. Dickson ex Lindl.	2005
		<i>Hibiscus rosa sinensis</i> L.	2005, 2006, 2007, 2008
	Moraceae	<i>Ficus benjamina</i> L.	2005, 2008
	Myrtaceae	<i>Agonis flexuosa</i> (Willd.)	2007
<i>Eucalyptus gunni</i> Hook. f.		2008	
Rutaceae	<i>Citrus limonum</i> L.	2007	
Ulmaceae	<i>Ulmus</i> sp.	2008	
<i>Dialeurodes citri</i>	Rubiaceae	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	2005, 2007
<i>Massilieuodes chittendeni</i>	Ericaceae	<i>Rhododendron</i> L. <i>hybride</i>	2007, 2008
		<i>Rhododendron simsii</i> (Pla.)	2005
<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	Anacardiaceae	<i>Cotinus</i> Miller sp.	2007
	Asteraceae	<i>Dendranthema x grandiflorum</i> Kitam	2005
		<i>Gerbera jamesonii</i> Bolus ex Adlam	2005, 2008
		<i>Helianthus annuus</i> L.	2005, 2008
	Buddlejaceae	<i>Buddleja davidii</i> (Franchet)	2005
	Campanulaceae	<i>Laurentia</i> Adans. sp.	2007
		<i>Platycodon grandiflorus</i> Astra (Jacq.)	2005, 2008
	Caprifoliaceae	<i>Viburnum opulus</i> L.	2006
	Ericaceae	<i>Azalea indica</i> L.	2005, 2007, 2008
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L.	2005
	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia</i> L. sp.	2007
	Fabaceae	<i>Medicago lupulina</i> L.	2005
		<i>Sophora subprostrata</i> Chun & Chen	2005

Hydrangaceae	<i>Philadelphus</i> L. sp.	2005
Labiatae	<i>Callicarpa bodinieri</i> H. Leveille	2007
Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i> L.	2005
Magnoliaceae	<i>Magnolia</i> L. sp.	2007
Malvaceae	<i>Hibiscus rosa sinensis</i> L.	2005, 2006, 2008
	<i>Hibiscus syriacus</i> L.	2006, 2007, 2008
	<i>Lavatera</i> L. sp.	2007
Myrtaceae	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> (Dehnh.)	2005
	<i>Eucalyptus gunni</i> Hook. f.	2005
Nyctaginaceae	<i>Bougainvillea spectabilis</i> (Willd.)	2005
Punicaceae	<i>Punica granatum nana</i> L.	2005
Rosaceae	<i>Spirea x vanhouttei</i> (Briot.) Zbl.	2007
Rubiaceae	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	2006
Salicaceae	<i>Salix</i> L. sp.	2005
Saxifragaceae	<i>Bergenia</i> Moench sp.	2007
Scrophulariaceae	<i>Paulownia tomentosa</i> Thunberg Steu.	2005
Solanaceae	<i>Brugmansia suaveolens</i> Willd.	2005
	<i>Solanum melongena</i> L.	2005
Streculiaceae	<i>Brachichiton acerifolius</i> Macarthus	2005
Verbenaceae	<i>Lantana camara</i> L.	2005

In the puparial stage, *B. afer* is the whitefly species most likely to be confused with *B. tabaci* during phytosanitary inspection. *B. afer* is widespread in the tropics and subtropics. According to Martin *et al.* (2000), *B. tabaci* and *B. afer* are the only two species of genus *Bemisia* recorded in Europe and the Mediterranean. In Croatia, *B. afer* is widespread throughout the country on numerous, mostly dicotyledonous woody host plant species (Šimala, 2008). The citrus whitefly, *D. citri* was detected on leaves of imported *Gardenia jasminoides* Ellis in 3 samples (Figure 2). This is a very rare host plant for this species, but according to Mound & Halsey (1978) also a possible host for *D. citri*. This whitefly is probable native of the Oriental Region (Martin *et al.*, 2000) and it is a very important pest on all *Citrus* species throughout the citrus growing areas in Croatia (Žanić *et al.*, 2000). Species *A. elevatus* is according to Šimala (2008) already well established in the nature in coastal part of Croatia on figs (*Ficus carica* L.). The woolly whitefly, *A. floccosus* is present in Croatia from recently, only on limited area in central part of Dalmatia (Žanić *et al.*, 2007; Šimala, 2008). Although only known as a pest of citrus crops in the Mediterranean Basin, it is a polyphagous species recorded on 18 plant families (Mound & Halsey, 1978). Species *A. hikosanensis*, *A. jasmini* and *M. chittendeni* are newly recorded species for Croatia (Šimala, 2008). These are non European whitefly species. According to the recent check list of the world's whiteflies (Martin & Mound, 2007) the genus *Aleuroclava* Singh 1931 is comprehensive of 122 species. The only species recorded in Europe is *A. similis* Takahashi, 1938 (Martin *et al.*, 2000). *A. hikosanensis* is Eastern Palearctic species. It is distributed in Japan and Korea. This species feeds on plants belonging to eight families: Agnifoliaceae, Buxaceae, Ericaceae, Lauraceae, Myricaceae, Pittosporaceae, Styracaceae and Theaceae (Evans, 2006). *A. hikosanensis* was detected on imported macro bonsai plants of *Ilex crenata* Thunb. from Japan in the nurseries in Lučko and Turanj (Table 1). *A. jasmini* is according to Evans (2006) distributed in Hawaii, Pacific Islands, Eastern Palearctic, Oriental and Australasian zoographical region. This species develops on plants belonging to Myrsinaceae, Rhamnaceae, Rubiaceae and Rutaceae. In Croatia, it was intercepted in 2007 on *G. jasminoides* imported from The Netherlands (Table 2). *M. chittendeni* is probably native to

northern Asia, from where many rhododendrons which are the only host plants of this whitefly species, also originate (Martin *et al.*, 2000). Whereas, it has spread with the plant trade and is now distributed in Nearctic and Western Palearctic region, including some European countries (Evans, 2006). *M. chittendeni* was intercepted several times (Figure 2) on imported rhododendron plants from The Netherlands and Italy in 2005, 2007 and 2008 (Table 2).

4 CONCLUSIONS

Inspections of imported ornamental plants on presence of whiteflies carried out in Croatia from 2005-2008 have resulted in 9 recorded species. *Aleurothrixus floccosus*, *Aleyrodes elevatus*, *Bemisia afer*, *Bemisia tabaci*, *Dialeurodes citri* and *Trialeurodes vaporariorum* are indigenous or after incidentally introduction already established whitefly species in Croatia. Some of them are widespread throughout the country and some are distributed only on limited area. *Aleuroclava hikosanensis*, *Aleuroclava jasmini* and *Massilieuodes chittendeni* are non European species recorded for the first time in Croatia. They are new alien species and their possibility of naturalization in Croatia is not known. For this reason, a Pest Risk Analysis for these potentially pests is strongly suggested.

5 ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to M.G.M. Jansen from the Plant Protection Service, Wageningen, The Netherlands, for his generous help in education on whitefly identification and for confirmation of our identifications.

6 REFERENCES

- Bink-Moenen, R.M., Gerling, D. 1990. Aleyrodidae of Israel. *Boll. Lab. Ent. Agr. Filippo Silvestri*, 47: 3-39.
- Evans, G.A. (2006) The Whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of the World and Their Host Plants and Natural Enemies. <http://www.sel.barc.usda.gov:591/1WF/World-Whitefly-Catalog.pdf>
- Fishpool, L.D.C., Burban, C. 1994. *Bemisia tabaci* the whitefly vector of African cassava mosaic geminivirus. *Tropical Science*, 34: 55-72.
- Habib, A., Farag, F.A. 1970. Studies on nine common aleurodids of Egypt. *Bulletin de la Société Entomologique d'Égypte*, 54: 1-41.
- Horvat, S., Železnjak, Ž., Lapaine, M. 2003. Vojni topografsko-kartografski sustav Republike Hrvatske. *Kartografija i geoinformacije*, 2, 2: 75-85.
- Martin, J.H. 1985. The whitefly of New Guinea (Homoptera: Aleyrodidae). *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Ent.)*, 50, 3: 303-351.
- Martin, J.H. 1987. An identification guide to common whitefly pest species of the world (Homoptera, Aleyrodidae). *Tropical Pest Management*, 33, 4: 298-322.
- Martin, J.H. 1999. The whitefly fauna of Australia (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). A taxonomic account and identification guide. Technical Paper 38, CSIRO Australia: 197 pp.
- Martin, J.H., Mifsud, D., Rapisarda, C. 2000. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean Basin. *Bulletin of Entomological Research*, 90: 407-448.
- Martin, J.H., Mound, L.A. 2007. An annotated check list of the world's whiteflies (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae). *Zootaxa*, 1492: 1-84.
- Mifsud, D. 1995. Whiteflies of the Maltese Islands (Homoptera, Aleyrodidae). *Central Mediterranean Naturalist*, 2, 3: 61-78.
- Mound, L.A. 1966. A revision of the British Aleyrodidae (Hemiptera: Homoptera). *Bulletin of the British Museum. Nat. History*, 17, 9: 397-428.
- Mound, L.A., Halsey, S.H. 1978. Whitefly of the world. A systematic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. British Museum (Natural History) and John Wiley and Sons, Chichester: 340 pp.
- Noordhuis, K.T. 1993. Vrt; veliki priručnik za cijelu godinu. Veble commerce p.o., Zagreb: 479 pp.
- Quattrochi, U. 2000. CRC World Dictionary of Plant Names: Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms and Etymology. Volume I-IV, CRC Press LLC, Florida: 2896 pp.
- Šilić, Č. 1990. Ukrasno drveće i grmlje. Svjetlost, Sarajevo: 221 pp.

- Šimala, M. 2008. Fauna štitaštih moljaca (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae) u Republici Hrvatskoj s posebnim osvrtom na vrstu *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889). Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku: 279 pp.
- Takahashi, R. 1952. *Aleurotuberculatus* and *Parabemisia* of Japan (Aleyrodidae, Homoptera) Miscellaneous Reports of the Research Institute for Natural Resources, Tokyo, 25: 17-24.
- Takahashi, R., 1954. Key to the tribes and genera of Aleyrodidae of Japan, with descriptions of three new genera and one new species (Homoptera). Insecta Matsumurana 18, 3-4: 47-53.
- Žanić, K., Kačić, S., Katalinić, M. 2000. Štetne vrste familije Aleyrodidae (Homoptera) na agrumima. ACS, Agric. Consp. Sci. 65, 1: 51-59.
- Žanić, K., Kačić, S., Katalinić, M. 2001. Duhanov štitašt moljac *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889), (Homoptera: Aleyrodidae) u Hrvatskoj. Entomol. Croat., 5, 1-2: 51-63.
- Žanić, K., Ostojčić, I., Kohnić, A. 2007. Vunasti štitašt moljac – *Aleurothrixus floccosus* (Maskell), novi štetašt agruma u Hrvatskoj. Zbornik rezimea IV Simpozijuma o zaštiti bilja u BiH, Teslić, 11.-13. prosinca: 58-59.
- Watson, G.W., Chandler, L.R. 1999. Identification of Mealybugs important in the Caribbean Region with notes on preparation of whitefly pupae for identification. Commonwealth Science and CAB International: 40 pp.
- Wickham, C. 1977. The houseplant book. Marshall Cavendish Limited, London: 250 pp.
- Yamamori, R.L., Taaffe, G. 2004. Garden plants of Japan. Timber Press, Inc., Portland, Oregon, U.S.A.: 440 pp.

CONTROL OF OLIVE FRUIT FLY – *Bactrocera oleae* Rossi (Diptera, Tephritidae) BY MASS TRAPPING AND BAIT SPRAYS METHODS IN DALMATIA

Mario BJELIŠ¹

¹Institut for plant protection in agriculture and forestry of Republic of Croatia

ABSTRACT

Olive fruit fly - *Bactrocera oleae* Rossi (Diptera, Tephritidae) is the most important olive pest that causes direct fruit loss and has negative influence to olive oil quality. Traditionally, suppression methods have been based on cover spraying using environmentally not friendly insecticides. Other, more selective methods, attract and kill and mass-trapping have been developed as ecologically better alternative. The effectiveness of bait spray and mass trapping methods was evaluated by testing of ready made bait products Success Bait and Eco Trap. The trials were conducted in the area of southern Dalmatia, near city of Ston, during 2008. year. The selected orchards were planted mainly with domestic cultivars Oblica and Bjelica. Trials were set on three olive orchards, bait spray plot, mass trapping plot and control plot. Data were collected in weekly intervals and were analysed as adults captures on traps for monitoring which were set in all experimental plots and fruit infestation. Evaluation shows no difference between average number of olive fruit flies captured on control traps during experiment on bait spray and mass trapping method. Evaluation of effectiveness showed higher effectiveness of mass trapping method in comparison with seven bait spray treatments. Evaluation of effectiveness results confirmed high effectiveness of both improved methods.

Key words: *Bactrocera oleae* Rossi, bait sprays, mass trapping, olive fruit fly

1 INTRODUCTION

Olive fruit fly – *Bactrocera oleae* Rossi 1790 (Diptera, Tephritidae) is most important pest of olive fruits along whole olive growing area of north east Adriatic coast (Novak, 1928, Civanto i Lopez – Villalta, 1999, Bjeliš, 2004) same as along whole Mediterranean growing areas (Longo i Benfato, 1983, Neunschwander i Michelakis, 1978, itd.). This pest causes huge economic damages, caused by infestation of fruits by larvae and fruit drop. Indirect damage can be measured through decrease of olive oil quality, caused by larvae activity inside the fruit, that suffers by nutritional changes of mesocarp degradation and oxidation proces and finally, increase of oleic free acids. Observation of fruit infestation along Croatian growes during begining of new milenium, shows that olive fruit fly – *B. oleae* Rossi, may cause huge fruit drop in cases without any kind of control measures against this pest (Bjeliš, 2004, Bjeliš *et.al.*, 2003a, 2003b).

Control of olive fruit fly – *B. oleae* Rossi with bait sprays was firstly proposed by Berlese in Italy during 1908-1909. year (Roessler, 1989). Control of this pest in Croatia were mainly based on cover sprays method with chemical insecticides, which was followed by bait sprays (Brnetić, 1979a, 1985. etc.) and mass trapping methods (Bjeliš, 2006). Mass trapping method represents preventive control measure, which is based on attraction and killing of olive fruit fly adults, before they reached to make infestation. The main advantage of mass trapping method is exclusion of fruits and whole canopy contamination by insecticides. The mass

¹ Dr. sc. , Zvonimirova 14 a, HR-21210 Solin, e-mail: mario.bjelis@zzb.hr

trapping methods can be applied by traps of different construction, which need to be set on the tree canopy. The traps are filled by different type of attractants and treated by insecticide, or they could be fill with attractant-insecticide watter sollution (Haniotakis *et.al.*, 1983, Barclay and Haniotakis, 1991, Bjeliš, 2006 etc.). Numerous researches on the trap type, insecticide and attractant used, number of the traps and trapping duration, resulted in developing of better attract and kill system based on bait sprays or mass trapping. Experiments also showe better efficacy of mass trapping method compared to bait sprays (Brumas and Haniotakis, 1987, Bumas *et.al.*, 1998, Delrio and Lentini, 1993, Ianotta and Perri, 1993, Bjeliš, 2006 etc.), with lower costs of application, specially human labour. This paper evaluates efficassy of mass trapping method in comparation with bait spray method.

2 MATERIALS AND METHODS

Three olive orchards were selected for the pupopse of this experiment. Orchards are located in the area of city of Ston, fifty kilometers west from city of Dubrovnik. Orchards are semi isolated, with other orchards of similar size arround. Orchards are in the full yield, more than twenty years old. Growing measures like pruning, fertilisation and weed control by soil cultivation are conducted on annual base program. Bait spray method was conducted in orchard planted with 120 olive trees of Oblica and Bjelica cultivars, planted in 7 x 7 m distance. Mass trapping method was conducted in 140 olive trees planted with Oblica and Bjelica cultivars, planted in 7 x 8 me distance. Orchard used for control plot is planted with 45 trees of cultivar Oblica, at 7 x 8 m distance. Mass trapping method was applied with Eco Trap product (Vioryl, Greece), which represents green carton bag, 15 x 20 cm size, impregnated with insecticide deltametrin from outside. The bag consists amonium bicarbonate inside of the bag, which is acting as food lure for adult flies. Additionally, one ampula of parapperomon spiroketol is hunged on the trap surface. Trap is activated by making two holes and the bag and one hole on ampula. Traps were hunged on the olive trees in ammount 1 trap per tree during second half of June, 2008. year. Bait spray method was applied with Sucess Bait (Dow AgroSciences, USA), which represents ready made bait, consisting insecticide spinosad and food lure. Sucess Bait was applied in 1,5 l/ ha ammount, diluted in 25 liters of watter/ha. Bait sprays were applied 7 times during fruit bearing season, starting from half June and repeted in two week treatment intervals. Adult population in all tree orchards were measured with control traps, type Chromotrap – M (Isagro, Italy), baited with pheromone 1,7 dioxaspiro undecane (Isagro, Italy), amonium hidrogen phosphate and hydrolysed protein Buminal (Bayer, Greece). Three traps per treatment were set in the experimental plots. Traps and lures were replaced in monthly intervals. Counting of captured flies were conducted every two weeks. Fruit infestation was observed through fruit sampling in ammount of 4 x 100 fruits per treatment each time of infestation analisys. Fruits were sampled and infestation was observed in the laboratory.

Effectiveness of tested products/ control methods was calculated with common formula for computing the effectiveness of an insecticide (Abbott, 1925).

3 RESULTS AND DISCUSSION

Results of the experiment are expressed through adult olive fruit fly captures on control traps and fruit infestations, during whole time of experiment. Data about adult captures are presented in Fig. 1. Captures from all three control traps are presented, together with dates of treatment with bait sprays, marked with symbol „*“. Results presented in the Fig. 2., show average number of all flies captured during experiment per trap.

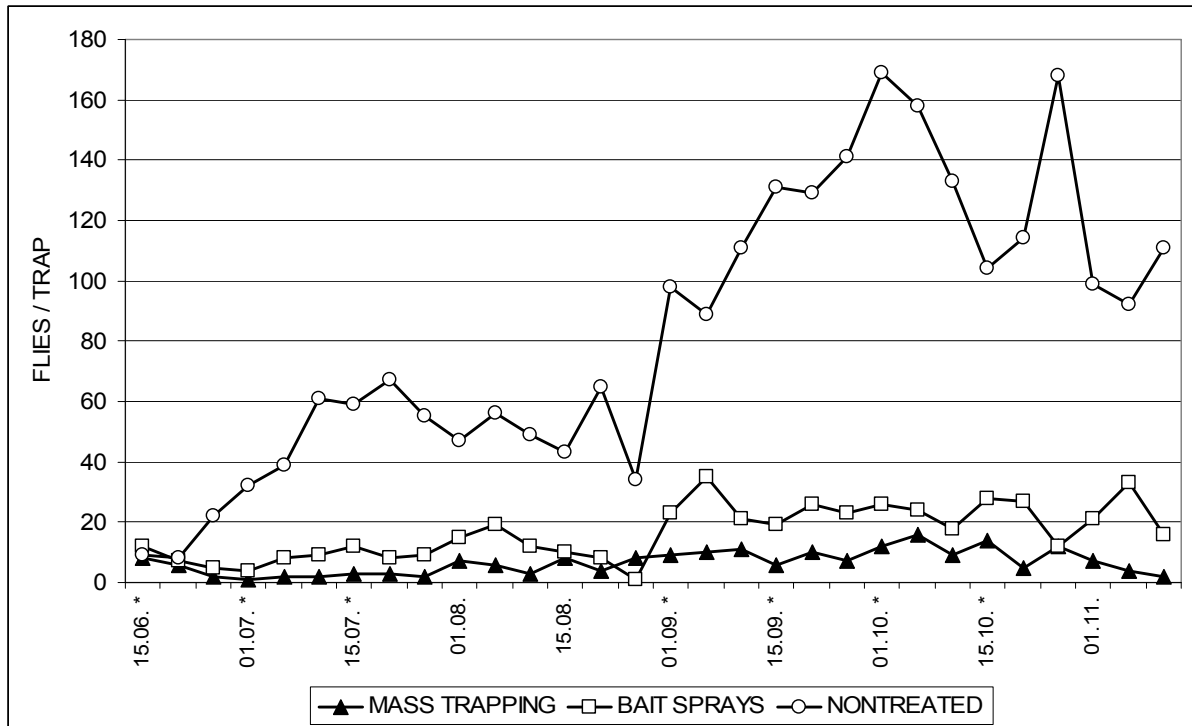


Fig. 1. Capture of olive fruit fly – *B. oleae* Rossi on control traps

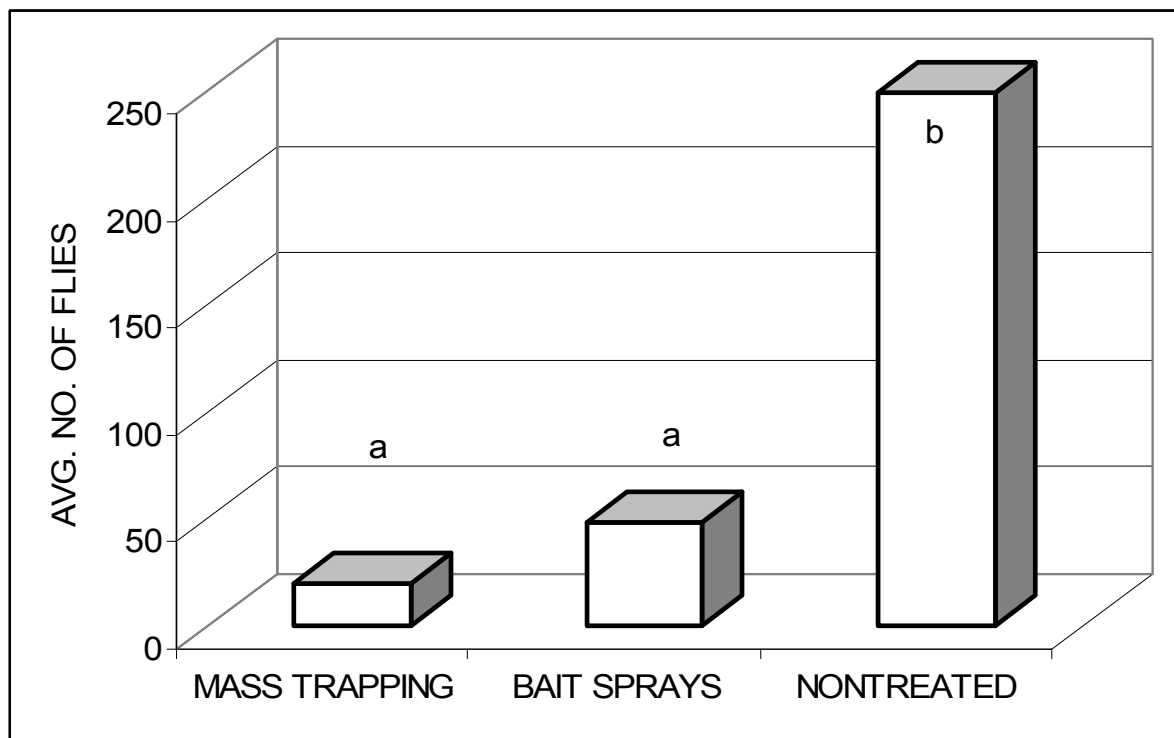


Fig. 2. Average number of olive fruit flies captured during experiment (Duncan's $p=0.5$, $n=30$).

Fruit infestation caused by olive fruit fly – *B. oleae* Rossi, is presented in Fig. 3. Results show values of fruit infestation with 3rd stage larva, pupae and exit holes, together and represent the harmful damage. Effectiveness of olive fruit fly control methods is presented in Fig. 4., and it was expressed by Abbott effectiveness percentage.

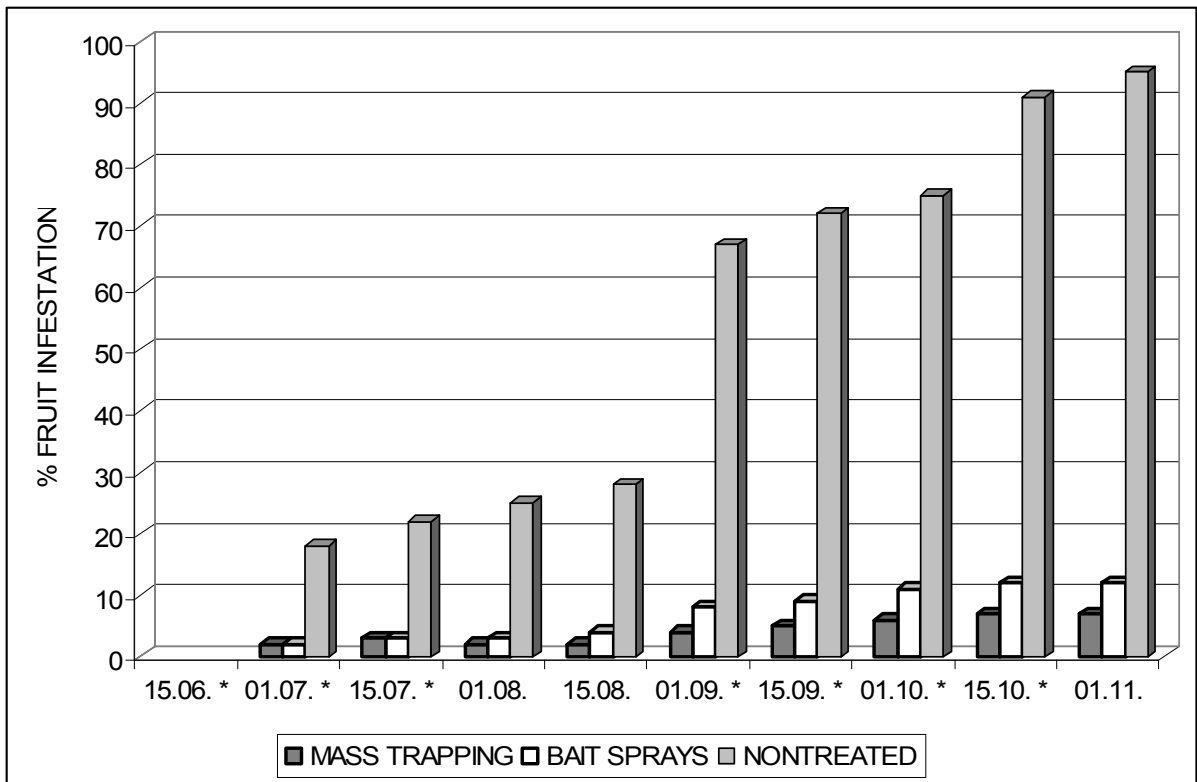


Fig. 3. Fruit infestation by olive fruit fly – *B. oleae* Rossi on experimental plots

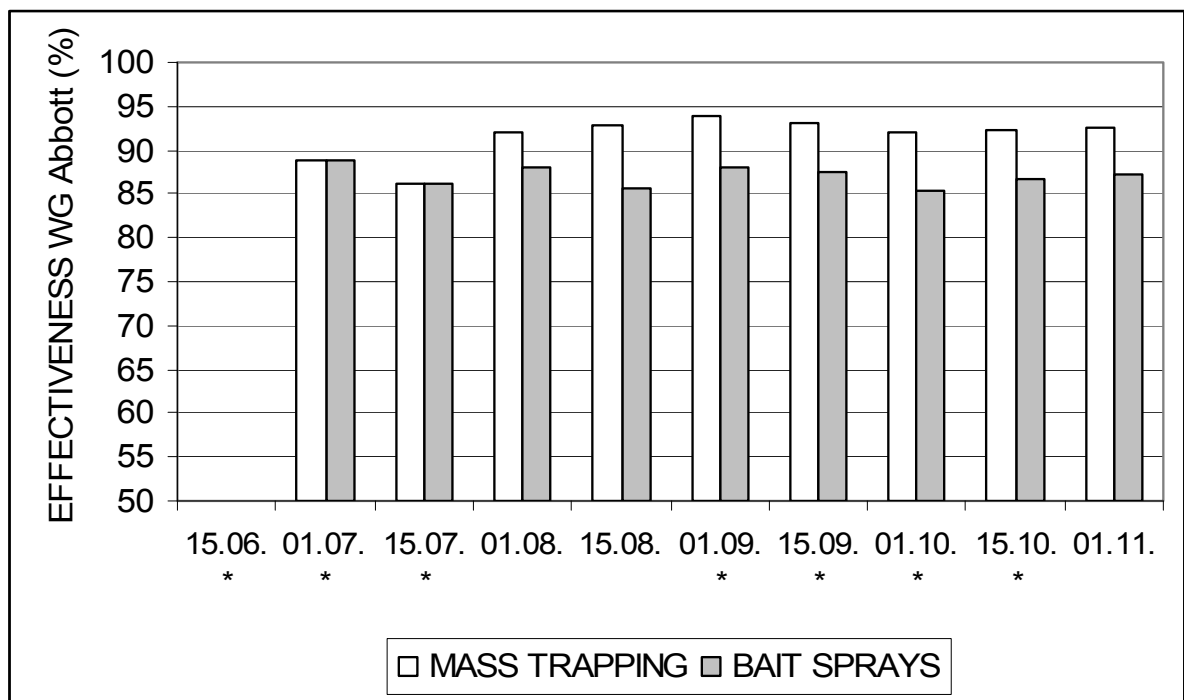


Fig. 4. Effectiveness of olive fruit fly control methods

4 CONCLUSIONS

Experiments for the control of olive fruit fly – *B. oleae* Rossi, confirm good effectiveness of bait sprays and mass trapping methods of control. Captures of olive fruit fly adults on control

traps was highest on non treated plots than in both methods of control, at significant level. Average fruit infestation reached maximum on non treated plots, while both methods of control, show satisfactory suppression level. Mass trapping method confirms higher effectiveness than bait spray methods against olive fruit fly during late summer period. Similar or better effectiveness, lower insecticide use and lower residue risk of mass trapping method than bait spray method, confirm possibilities for replacing current conventional control methods with mass trapping method in ecological conditions of Dalmatia.

5 REFERENCES

- Abbott, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18:265–267.
- Barclay, H. J., Haniotakis, G. E. 1991. Combining pheromone-baited and food-baited traps for insect pest control: Effects of developmental period. Researches on Population Ecology 33(2):269-285.
- Bjeliš M., 2004. Ocjena intenziteta napada štetnika na maslini tijekom 2003. godine. Bulimbašić (ed) 6. Međunarodna manifestacija maslinara i uljara Jadrana, Noćnjak 2004. Šibenik . Zbornik radova, pp. 125-134.
- Bjeliš, M. (2006): Suzbijanje maslinine muhe *Bactrocera oleae* Gmel. (Diptera, Tephritidae) metodom masovnog lova. Fragmenta Phytomedica et Herbologica, Vol. 29 No. 1-2. 2006, str. 35-48.
- Bjeliš, M., Pelicarić, V., Masten, T. i D.Radunić, 2003a. Zaraza plodova masline maslininom muhom, *Bactrocera oleae* Gmel. na maslinarskim područjima u 2002. godini. U: Bulimbašić (ed) 5. Međunarodna manifestacija maslinara i uljara Jadrana, Noćnjak 2003. Jelsa. Zbornik radova, pp. 66-70.
- Bjeliš, M., V.Pelicarić i T. Masten, 2003b: Olive fruit fly – *Bactrocera oleae* Gmelin (Diptera, Tephritidae) in Croatia; damage in new milenium and advanced methods of control. Abstracts of 1st European Meeting of the IOBC/WPRS Study Group «Integrated Control in Olives», MAICh, Chania, Grčka, May 29-31, 2003., pp. 5 (summary).
- Brnetić, D. , 1979. Suzbijanje maslinine muhe (*Dacus oleae* Gmel. Sa stajališta zaštite čovjekove okoline i proizvodnje ulja. Polj. i šum. XXV., 1., 3-16. Brnetić, D. , 1979b. Suzbijanje maslinine muhe i moljca. Prehrambeno-tehnološka revija 7, 17 (4), 169-171, Zagreb.
- Brnetić, D., 1985., Neka naša iskustva pri suzbijanju maslinine muhe (*Dacus oleae* GMEL.) zatrovanim mamcima. Agronomski glasnik br. 5-6.
- Brnetić, D., Vujadinović, Č., 1983. Zatrovani mamci i maslinina muha (*Dacus oleae* GMEL.) na otoku Cresu u 1982. godini. Glasnik zaštite bilja, 6, 193-197.
- Broumas, T., i G. Haniotakis, 1987. Further studies on the control of the olive fruit fly by mass trapping. Proc. II International Symposium on fruit flies, Crete, Sept. 1986, pp. 561-565.
- Broumas, T., G. Haniotakis, C. Liaropoulos, T. Tomazou i N. Ragousis, 1998. Effect of attractant, trap density and deployment on the efficacy of the mass trapping method against the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera:Tephritidae). Ann. Phyt.Inst. Benaki (N. S.) 18:67-80.
- Civantos Lopez-Villalta, M. 1999. Olive pest and disease management. IOOC, Madrid
- Delrio G. i Lentini A., 1993., Applicazione della tecnica delle catture massali contro il *Dacus oleae* in due comprensori olivicoli della Sardegna.-Atti del Convegno “Lotta Integrata in olivicoltura” (Progetto Finalizzato MAF “Lotta biologica ed integrate”), Firenze, 21/11/1991, pp. 93-99.
- Haniotakis, G. E., M. Kozyrakis i I. Hardakis, 1983. Applications of pheromones for the control of the olive fruit fly, pp.164-171. In Proceedings, International conference on integrated plant protection, vol. 4. July 4-9, 1983. Budapest, Hungary. Hung. Soc. Agr. Sci., Plant protection Section, Budapest.
- Iannota, N. i Perri, L., 1991. Prova di mass-trapping nel controllo di *Dacus oleae* (Gmel.) in Calabria. M.A.F. Convegno “Lotta integrata in olivicoltura”, Firenze 1991 (Coord.A.Crovetti),ed. Ist.Sper.Pat.Veg.,Rome,pp.87-92.
- Longo, S. i Benfatto, D., 1983. Observation on olive fly (*Dacus oleae* Gmel.) population dynamics in Sicily. In: Cavaloro R., Fruit Flies of Economic Importance, 612-619.
- Neuenschwander, P. i S. Michelakis, 1978. The infestation of *Dacus oleae* Gmel. (Diptera:Tephritidae) at harvest time and its influence on yield and quality of olive oil in Crete. Journal of Applied Entomology 86:420-433.
- Novak P., Štetnici maline. Državna poljoprivredna ogledna stanica - Split.
- Rosler, Y. 1989. Insecticidal bait and cover sprays. In: A.S.Robinson and G.Hopper (eds), World Crop Pests, Fruit Flies, their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier Science Publishers B.V., Vol 3B, pp 329-336.

CONTROL OF OLIVE MOTH – *Prays oleae* Bernhard (Lepidoptera, Hyponomeutidae) FLOWER GENERATION BY INSECTICIDE COVER SPRAYS

Mario BJELIŠ¹, Dražen RADUNIĆ²

^{1,2}Institut for plant protection in agriculture and forestry of Republic of Croatia

ABSTRACT

Olive moth is one of the most important olive pests, specially it's first and second generations, which cause direct damages on flowers and fruits. Current suppression methods are based on chemical treatments, mostly with large spectrum of insecticides. Their repeated use over years often disorders natural balance in olive orchards, which brings problems with different secondary pests and diseases, first of all scales from family Coccidae, followed by outbreak of sooty mould complex. For this reason, researches with some new insecticides with different mode of action were carried out in order to measure their efficacy against olive moth's flower generation. Experiments were set in the area of Central Dalmatia, fifty kilometers west from city of Split, near village Marina and Primošten. Experimental plot used were olive orchards planted with domestic cultivar Oblica. Active ingredients used in trials include most insecticide groups: neonicotinoids (tiacloprid), naturalites (spinosad), synthetic pyretroids (deltametrin, gama-cyhalothrin and lambda-cyhalotrin) and insect growth regulators (teflubenzuron). All tested insecticides show high efficassy against olive moth. The most effective insecticide used in this trials, measured by using of Abbot efficacy, were teflubenzuron (92-96%) and spinosad (98-100%), with their interspecific selectivity. This confirms possibilities for replacing other nonselective insecticides in this trial, commonly used area wide.

Key words: flower generation, IGR, naturalytes, neonicotinoides, synthetic pyrethroids

1 INTRODUCTION

Olive moth - *Prays oleae* Bernhard (Lepidoptera, Hyponomeutidae) is important olive pest in whole mediterranean olive production area. In the Republic of Croatia this pest is also wide spread, in some areas, specialy islands, large areas around Zadar and Šibenik causes equal or even bigger damage comparing with olive fruit fly – *Bactrocera oleae* Rossi (Diptera, Tephritidae), (Bjeliš, 2004, 2005). It's life cycle is connected with olive phenophases and developes three generations on different plant organs during vegetation. First generation attacks flowers. Adult females starts laying their eggs right before flowering, during phenology phase „E“, around ten days before flowering. Young larvae puncture into flower buds, go out from one to another feeding their content. One larva may eat up to 40 flowers. Second generation occurs in young fruits, cca 4 mm perimeter. After egg developement, larva directly punctures into the fruit feeding in its mesocarp and finally enters the kernel. After destroying the kernel, larva leaves it causing fruit drop. Fruit drop is taking place twice during season. First drop, after puncturing young larvae into the fruit may be prolonged during whole July. Second, caused by exiting larvae that make channel around fruit pedicle is coming during August and September. Such dropped fruits have no any commercial value.

¹ Dr.sc, Zvonimirova 14 a, 21210 Solin

² Dipl. ing., ibid.

Third generation occurs in olive leaves. After egg development young larva creates typical gallery. During february it goes out from gallery finishing its stage feeding on leaf back.

Generations that attack flowers, but even more fruits cause damages. These two should be treated by fitosanitary measures, while control of leaves generation is not recommended.

Control of olive moth by non selective insecticides, specially from synthetic pyrethroids group, usually causes breakdown of the olive entomofauna complex, with outbreak of scale insects and sooty mould complex (Brnetić, 1978a). Replacement of conventional insecticides with more selective insecticides from groups of insect growth regulators or biopesticides like *Bacillus thuringiensis kurstaki*, shows good results of olive moth population suppression and damage (Brnetić, 1978b, Brnetić, Perko, 1983, Katalinić *et. al.* 1997, Bjeliš, 2007, etc.), but requires higher level of knowledge from the farmers position.

However, other easy to applied selective methods of control are in the developing process along the Mediterranean area. These are mainly based on mass trapping of adults (Hegazi, Khafagi, 2005) and mating disruption (Mazomenos, Pantazi-Mazomenos, 2003, Bento *et.al.* 2005).

2 MATERIALS AND METHODS

Experiments were conducted during 2005. year in two olive orchards, namely location Marina and location Primošten, fifty to sixty km west from city of Split, in olive growing area of central Dalmatia. Selected olive orchard on Marina location is five years old, planted at 8 x 8 m distance with irrigation system and planted with cultivar Oblica. Selected olive orchard on Primošten location is twenty five years old, planted at 7 x 7 m distance, without irrigation system and planted with cultivar Oblica.

Selected orchards were used couple of years, with purpose to monitor olive pests, with confirmed presence of regular high olive moth population.

Around two week prior to experimental treatments, pheromone traps (Traptest, Isagro, Italy) containing Z-7-tetradecanal ampulas, were hung in both orchards, to monitor olive moth adult fluctuation.

Treatment were applied by back-pack sprayer machine on following dates and conditions: 13th May, cloudy weather, 16,5 – 20 °C temperature, on Marina location and 20th May, cloudy weather, 17°C temperature on Primošten location. List with names, active ingredients, formulation and concentration tested are presented in Table 1.

Results were observed during the phenology phase „G“, means when flower petals start to fall down, when larvae or pupae are full developed and fixed on the inflorescence stem. Infestation was counted by sampling of inflorescence and counting number of preimaginal stages per inflorescence. Trials were set in five replications and eight olive trees were used as one replication. Five times one hundred inflorescences were sampled to observe infestation by flower generation. Insecticide efficacy was calculated with common formula for computing the effectiveness of an insecticide (Abbott, 1925).

Table 1: List and description of tested insecticides

Insecticide group	Active ingredient	Product name	Concentration (%)
Naturalytes	spinosad	Lasser KS	0,03
Naturalytes	spinosad	Lasser KS	0,04
Insect growth regulators	teflubenzuron	Nomolt SC	0,1
Neonicotinoides	tiacloprid	Calipsc SC 480	0,08
Synthetic pyrethroids	deltametrin	Decis 100EC	0,06
Synthetic pyrethroids	lambda cihalotrin	Karate 2,5EC	0,025
Synthetic pyrethroids	gama cihalotrin	Vantex MC	0,004
Synthetic pyrethroids	gama cihalotrin	Vantex MC	0,005
Synthetic pyrethroids	gama cihalotrin	Vantex MC	0,006

3 RESULTS AND DISCUSSION

Results show that trap capture of adult olive moth – *P. oleae* Bern., was significant prior to the oviposition period on both locations, started with phenology phase „G“. There is time difference and delay in phenology phase between locations and it is notably that flowering started one week earlier on location Marina (Fig. 1). However, this difference could be caused by microclimat difference or altitude, exposition or similar, and proves importance of following phenology stages, instead generalised spraying advice. Capturing of two to three hundred moths during last ten days before phenology phase „E“, promises enough high infestation for good evaluation of effectiveness of insecticides (Fig. 1).

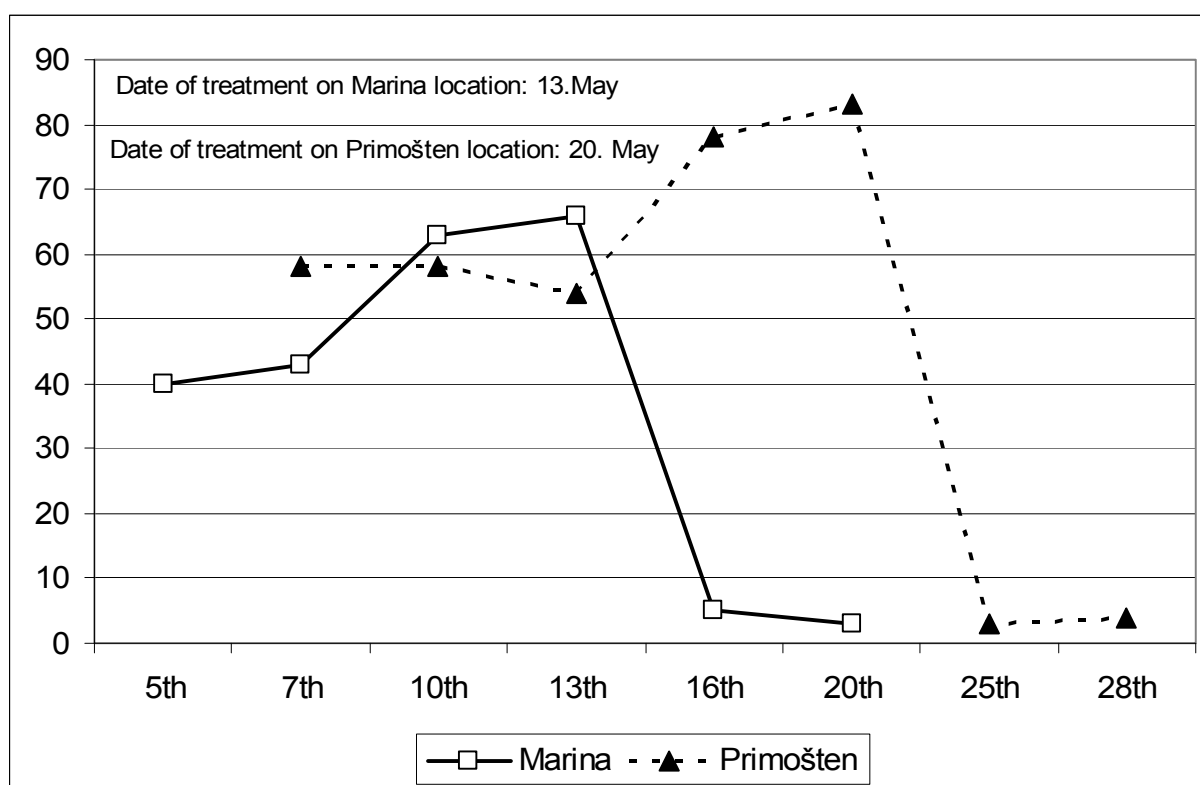


Fig. 1: Olive moth – *Prays oleae* Bern. adults capture on pheromone traps.

Flower infestation was significant on both locations and it was measured up to 60% on location Marina and 70% on location Primošten (Figs. 2 and 3). Results show high and satisfactory effectiveness of all tested products. On location Primošten, most effective insecticide was spinosad that reduced olive moth attack for 98,57 – 100%, followed by teflubenzuron, deltametrin, lambda cihalotrin and gama cihalotrin who reduced olive moth attack for 97,14% and the weakest effectiveness was achieved with tiacloprid 92,85 % (Fig. 2.).

On location Marina, most effective insecticides were teflubenzuron and deltametrin, that reduced olive moth attack for 98,3 %, followed by spinosad that reduced olive moth attack for 95,0 %, lambda cihalotrin and gama cihalotrin for 93,3%. The weakest effectiveness was achieved with tiacloprid that reduced olive moth attack for 85% (Fig. 3.). Significant effectiveness of spinosad against flower generation of olive moth – *P. oleae* Bern., should be taken in consideration of replacing conventional insecticide used.

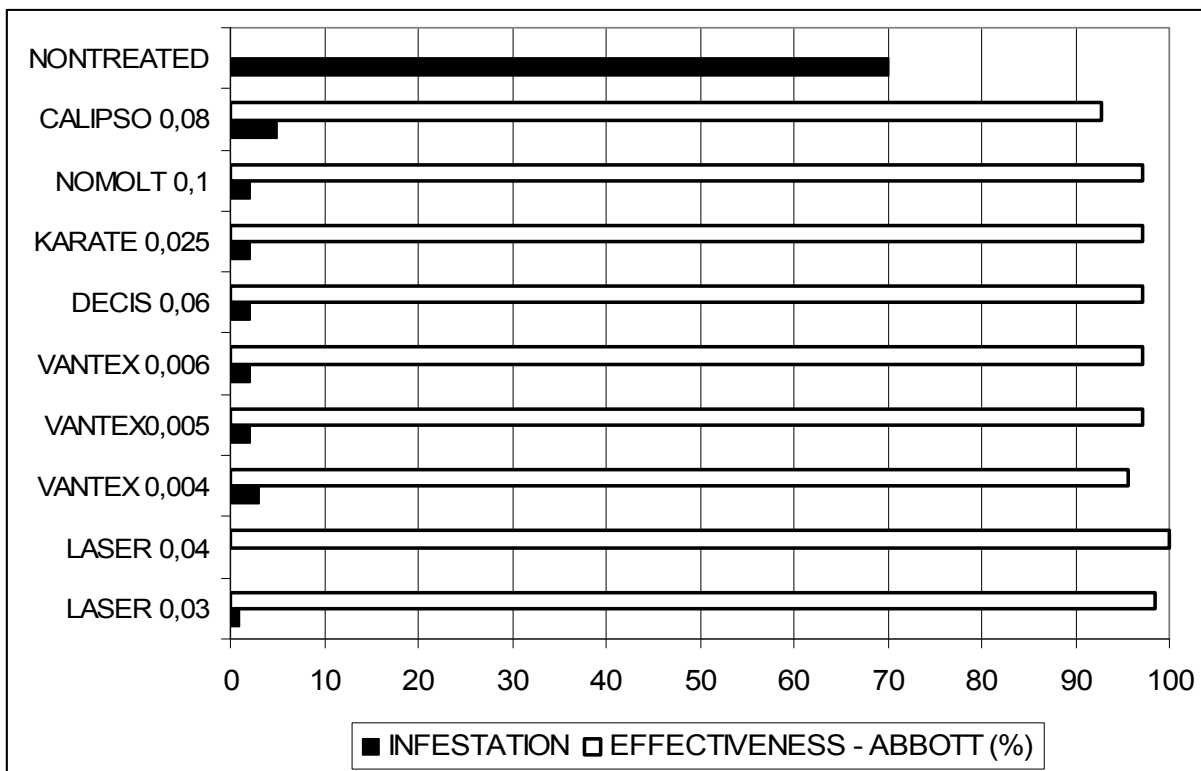


Fig. 2: Effectiveness of tested insecticide on location Primošten.

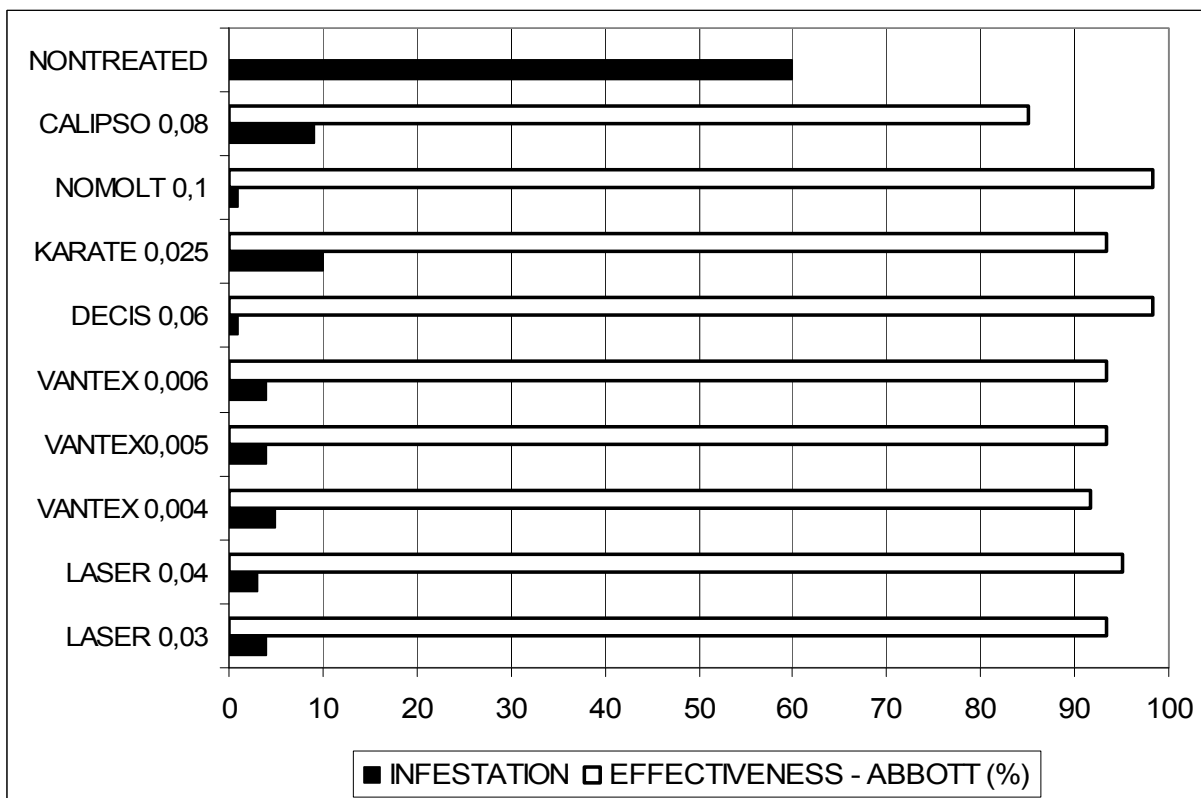


Fig. 3: Effectiveness of tested insecticide on location Marina.

Although, insect growth regulators usually show high effectiveness against lepidopteran species, with low danger impact to the workers, characteristic of some new active ingredients like fenoxicarb, lufenuron and novoluron should not be ignored. Moving ahead from conventional to certificated olive fruit and oil production, requires implementation of newly developed selective methods and products which are allowed to be used in organic farming.

4 CONCLUSIONS

Tested insecticides show different range of effectiveness against olive moth - *Prays oleae* Bern. flower generation. On location Primošten, most effective insecticide was spinosad that reduced olive moth attack for 98,57 – 100%, followed by teflubenzuron, deltametrin, lambda cihalotrin and gama cihalotrin that reduced olive moth attack for 97,14%. On location Marina, most effective insecticides were teflubenzuron and deltametrin, that reduced olive moth attack for 98,3 %, followed by spinosad that reduced olive moth attack for 95,0 %. The high effectiveness of spinosad proves possibilities to replace even selective insecticides from insect growth regulators group, like teflubenzuron and certainly non selective insecticides from synthetic pyrethroids group.

5 REFERENCES

- Abbott, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18:265–267.
- Bento, A., Pereira, J.A., Cabanas, J.E., Konstantopoulou, M., Torres, L.M., Mazomenos, B.E. 2005. Mating disruption trials for the olive moth *Prays oleae* (bern.), (Lepidoptera, Hyponomeutidae) in tras-os-montes olive groves (Northeast of Portugal). 2nd European Meeting of the IOBC/WPRS study group „Integrated Protection of Olive Crop“, Florence, Italy, Abstrac book, 47-48.
- Bjeliš, M. (2004): Ocjena intenziteta napada štetnika na maslini tijekom 2003. godine. 6. Međunarodna manifestacija maslinara i uljara Jadrana «Noćnjak 2004», Šibenik, 26-28. ožujka . Zbornik radova, pp. 125-134.
- Bjeliš, M. 2005. Zaštita masline u ekološkoj proizvodnji. Vlastita naklada, Solin, 1- 196. UDK 634.63:632.5
- Bjeliš, M. 2007. Suzbijanje maslinina moljca. „Maslina“ Časopis za maslinarstvo i uljarstvo br: 14, 48-50.
- Brnetić, D. 1978a. Štetne posljedice narušavanja biološke ravnoteže u maslininoj biocenozi i nastojanja da se te štete ublaže u skladu s interesima čovjekovog zdravlja i ekonomske proizvodnje. Agronomski glasnik 5-6, 915-927.
- Brnetić, D. 1978b. Suzbijanje maslininog moljca (*Prays oleae* Bern.) mikrobiološkim postupkom u 1978. godini. Savjetovanje o primjeni pesticida u zaštiti bilja. Zbornik radova. Poreč.
- Brnetić, D., Perko, S. 1983. Istraživanje prikladnosti upotrebe diflubenzurona za suzbijanje maslininog moljca (*Prays oleae* Bern., Lepidoptera, Hyponomeutidae) u 1982.godini. Agronomski glasnik, br. 2-3.
- Hegazi, E.M., Khafagi, W.E. 2005. Unexpected mass collection of the olive moth, *Prays oleae* Bern., by non-traditional black light traps. IOBC wprs Bulletin, Vol. 28 (9) 2005, 109-117.
- Katalinić, M., Kačić, S., Žanić, K. 1997. Djelovanje inhibitora razvoja insekata (diflubenzuron, fenoksikarb, hekasflumuron) i bioinsekticida (*Bacillus thuringiensis* Berlinier) na antofagnu generaciju maslininog moljca. Glasnik zaštite bilja 1/1997.
- Mazomenos, B.E., Pantazi-Mazomenos, A. 2003. Mating disruption main component in an IPM system to control the olive moth *Prays oleae* (Bern.). 1st European Meeting of the IOBC/WPRS study group „Integrated Protection of Olive Crops, Maich, Chania, Greece, Abstrac book, 52.

POVEZAVA MED POJAVOM NAVADNE PRŠICE (*Tetranychus urticae* Koch) NA KRIZANTEMAH *CHRYSANTHEMUM* 'VERIA DARK' IN 'CASSABLANCA WHITE' IN VSEBNOSTJO FENOLOV IN PIGMENTOV V LISTIH

Mojca REMIC¹, Lea MILEVOJ², Helena ŠIRCELJ³

^{1,2,3}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

IZVLEČEK

Navadna pršica (*Tetranychus urticae* Koch) spada med pomembne škodljivce na okrasnih rastlinah. Povezavo med pojavom navadne pršice na dveh sortah krizantem *Chrysanthemum* 'Veria dark' in 'Cassablanca White' in vsebnostjo fenolov in pigmentov v listih, smo raziskovali v letih 2003 in 2004, v rastlinjakih na Laboratorijskem polju in v laboratorijih Biotehniške fakultete, Oddelka za agronomijo (Ljubljana). Tehnologijo gojenja krizantem smo izvajali v skladu s priporočili stroke in na podlagi lastnih opazovanj. Namakali smo jih kapljično in poplavno. Fenole in pigmente v listih krizantem smo analizirali po metodah Scalberta in sod. (1988) in Pfeifhoferja (1989). V obeh sortah smo določili fenole miricetin, naringerin, kavino in klorogensko kislino. Vsebnost klorogenske kisline narašča s starostjo krizantem, kar pripomore k večji tolerantnosti rastlin na navadno pršico. Navadna pršica ni bistveno vplivala na spremembe v vsebnosti pigmentov v listih obeh sort krizantem, ker se ni namnožila in ni delovala škodljivo na rastline. Spremembe v vsebnosti klorofilov pripisujemo neugodnim gojitvenim dejavnikom (preveliki količini vode v substratu).

Ključne besede: *Tetranychus urticae*, navadna pršica, *Chrysanthemum*, krizanteme, klorogenska kislina, fenoli, pigmenti

ABSTRACT

CONNECTION BETWEEN TWO SPOTTED SPIDER MITE (*Tetranychus urticae* Koch) ON CHRYSANTHEMUM *CHRYSANTHEMUM* 'VERIA DARK' IN 'CASSABLANCA WHITE' AND PHENOLICS COMPOUNDS AND PIGMENTS IN ITS LEAFS

Twospotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) is one of the main pests on ornamental plants. The research of phenolics and pigments in leaves and their influence on the colonisation of twospotted spider mite on chrysanthemum *Chrysanthemum* 'Veria Dark' and 'Cassablanca White' was carried out in 2003 and 2004 in greenhouses and in laboratories of the Biotechnical Faculty, Department of Agronomy (Ljubljana). The technology of chrysanthemum growing was carried out according to professional recommendations and our own observations. Drop irrigation and flood irrigation were used. Phenolics and pigments were analysed according to the methods by Scalbert *et al.* (1988) and Pfeifhofer (1989). In both varieties we identified phenolics miricetin, naringerin, caffeic acid and chlorogenic acid. Chlorogenic acid level increases with the age of chrysanthemums, which contributes to a higher resistance of the plants against twospotted spider mite. The twospotted spider mite did not have any considerable effect on changes in pigments levels in the leaves of both varieties, as it did not multiply and therefore had no harmful effect on plants. Changes in

¹ mag. agr. znan., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² red. prof., dr., v pokoju, prav tam

³ dr., prav tam

chlorophylls levels are therefore attributed to unfavourable growing factors (excess of water in the substrate).

Key words: *Tetranychus urticae*, twospotted spider mite, *Chrysanthemum*, chrysanthemum, chlorogenic acid, phenolics compounds, pigments

1 UVOD

Navadna pršica (*Tetranychus urticae* Koch), imenovana tudi fižolova ali hmeljna, napada več kot 200 rastlinskih vrst. Že od leta 1950 predstavlja enega glavnih škodljivcev na okrasnih rastlinah (Tanigoshi s sod., 2001). Na krizantemah se pojavlja pri intenzivnem gojenju v rastlinjakih. Njeno škodljivost povečujejo dobra prehrana rastlin, zlasti z dušikom, raba insekticidov s širokim spektrom delovanja, ki zatirajo njene naravne sovražnike, pa tudi sorazmerno hiter pojav ras, odpornih na akaricide in insekticide (Vrabl, 1992). V rastlinjakih jo vzpodbujajo še visoke temperature, nizka relativna zračna vlaga, preprih, ki jih raznaša in plevel, če uspeva ob obrobju rastlinjaka, kjer se pršice najprej naselijo (Lamparter, 1992). Različno zalivanje (npr. kapljično ali poplavno) vpliva na zračno vlago, ki je pomembna za razvoj pršic.

Fenolne spojine so kazatelji stresa, ker se akumulirajo na tistem mestu v rastlini, kjer je bila le-ta prizadeta (poškodbe zaradi vremenskih dejavnikov in herbivorov – npr. sesanja pršic) in povečujejo odpornost rastlin (Harborne, 1980). Rod *Chrysanthemum* vsebuje fenole (npr. klorogensko kislino), ki delujejo obrambno proti nekaterim škodljivcem (Benninger in Hall, 2004). Fenole so izolirali iz vrst *Chrysanthemum indicum* L. in *Chrysanthemum leucanthemum* L. Po navedbah Benninger-ja s sod. (2003) kavina, klorogenska kislina in 3,5-dikavolikvinska kislina delujejo toksično na nekatere žuželke kot sta kapusov belin in koruzna vešča. Listi obledijo, kar je značilen indikator klorogenske kisline in njenih derivatov. Fenolne kisline lahko vplivajo na rast rastlin, lahko motijo sintezo proteinov, siringinska, kavina in protokatehinska kislina zavirajo tvorbo klorofila in inhibirajo odvzem dušika, fosforja, kalija in molibdena (Benninger in sod., 2003). V listih krizanteme *Dendranthema x grandiflorum* 'Spears' so odkrili naslednje pigmente: klorofil a, klorofil b, karotenoide (β -karoten) in ksantofile (lutein, violaksantin, neoksantin) (McMahon in Kelly, 1995). Na degradacijo klorofila vplivajo stresni dejavniki, kot sta suša in prevelika količina vode. Oba povzročata najprej rumenenje, kateremu sledi dokončno propadanje listov rastlin. Karotenoidi so antioksidanti, zato delujejo antioksidativno, kar pomeni, da v fitofagnih žuželkah uničujejo škodljive oblike kisika (Ahmad, 1992). Predvsem za lutein velja, da ga fitofagi akumulirajo. Listi rastlin z visoko vsebnostjo luteina so bolj dovzetni za fitofagne žuželke (Ahmad in Pardini, 1990).

Po dosegljivih virih vpliv sekundarnih metabolitov v lončnih krizantemah na navadno pršico še ni proučevan. Namen naše raziskave je ugotoviti, ali obstajajo razlike med dvema sortama krizantem 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' za naselitev navadne pršice, ali obstajajo razlike v kemični sestavi krizantem (vsebnost fenolov in pigmentov), ali se med fenoli pojavlja klorogenska kislina.

2 MATERIAL IN METODE

Poskusi so potekali v rastlinjaku in laboratorijih Biotehniške fakultete, Oddelka za agronomijo (Ljubljana), od druge polovice junija do konca oktobra, skupaj 133 dni v letu 2003 ter 128 dni v letu 2004. Mnogocvetni lončni krizantemi (*Chrysanthemum* L.) 'Veria Dark' (okrajšavi VD ali Vd) in 'Cassablanca White' (okrajšavi CS ali Cs) smo gojili v univerzalnem Klassman Tonsubstratu (K.T.).

Prvo leto smo v vsak gojitveni lonec premera 20 cm zatehtali 1000 g substrata. Vanje smo 17. junija 2003 posadili po tri sadike krizantem s koreninsko grudico. Dve gojitveni mizi smo v letu 2003 namakali poplavno, drugi dve pa kapljično. V letu 2004 je bila tehnologija sajenja krizantem podobna kakor v letu 2003. Krizanteme, 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' smo sadili 24. junija 2004 v enake gojitvene lonce, kakor leta 2003, le da smo vsak lonec napolnili s po 1500 g Klassmanovega Tonsustrata. Kapljični sistem je bil nameščen površinsko, in sicer štiri linije s kapljači kapacitete 2 l/h na razdalji 50 cm. V letu 2004 smo namakali samo poplavno. Zalivali smo vsak drugi dan po 20 minut oziroma, ko je tenziometer pokazal, da je v loncih že zelo malo vode, a še vedno nad poljsko kapaciteto. Od 14. oktobra 2004, smo namakali samo še po 10 minut na dan, ker so bile vremenske razmere takšne, da so krizanteme porabile manj vode, kot so jo poleti. Druga tehnologija, pomembna pri gojenju lončnih krizantem, je obe leti sledila priporočilom iz literature (Vogelmann, 1969; Tuentner, 2002; Pieters, 2002) in domače stroke (Gomzi, 2003). Varstvo pred škodljivimi organizmi smo opravili na podlagi lastnih opazovanj.

V letu 2003 smo navadno pršico tipalno naselili na polovico krizantem 'Veria Dark' in 'Cassablanca White', ko so bile stare od 4 do 6 tednov in so bile od 30 do 50 cm visoke. Izhodno populacijo pršice smo zbrali na Laboratorijskem polju in smo jo namnožili na listih fižola 'Berggold' po metodi Kielkiewicz-a in Vrie-ja (1990). Od 15 do 20 odraslih samic navadne pršice smo na fižolovih listih 4. avgusta leta 2003 prenesli v odprtih plastičnih petrijevkah na vsako rastlino tako, da so se živalce po njih lahko razlezle. Po dveh dneh in kasneje vsak teden smo spremljali razvoj pršice na krizantemah tako, da smo z rastline naključno odtrgali po 4 liste, 2 lista iz osrednjega mladostnega dela rastline in 2 lista iz starejšega dela rastline in pregledali pršice pod stereolupo Olympus.

V letu 2004 smo se odločili le za poplavno namakanje, na podlagi poskusa v letu 2003, ki je pokazal, da med namakanjema ni statistično značilnih razlik (ANOVA, $p > 0,05$). V letu 2004 smo pršice naselili na krizanteme konec avgusta (25. 08. 2004 ter 27. 08. 2004) t.j. dva tedna po drugem vršičkanju. Naselili smo od 15 do 20 pršic na vsak izbrani lonec, na dva načina, zgoraj (Zg) in znotraj (N) krošnje vsake sorte krizantem, zaradi spremljanja odziva sorte na pršico. Postavili smo šest obravnavanj: kontrola (K), dva načina naseljevanja (Zg, N) in dve sorti (Vd, Cs). Obravnavanja so bila naključno razporejena znotraj mize (slučajni bloki). podobno kakor prvo leto.

V letu 2004 smo razvoj pršic spremljali v treh sklopih opazovanj, po osem loncev od vsake sorte krizantem. V prvem opazovanju (od 4. do 10. 8.) smo iz prvega lonca pregledali 400 naključno izbranih listov po celi rastlini in 43 naključno izbranih vršičkov. V drugem opazovanju (od 24. do 30. 9.) smo iz drugega lonca potrgali enako število listov in vršičkov, v tretjem opazovanju (od 14. do 20. 10.) smo iz tretjega lonca pregledali 400 listov in 69 posameznih cvetov, da bi ugotovili, kako so se pršice naselile po višini rastline. Pršice smo šteli pod stereolupo Olympus.

V letu 2003 in 2004 smo nabrali vzorce listov krizantem za analizo fenolov in analizo pigmentov. 3. 10. 2003, ko so bile krizanteme stare tri mesece in so imele od 5 do 10 cvetnih nastavkov, smo potrgali po 15 enako razvitih listov iz enega lonca za kemične analize. Liste smo jemali pod šestim polno razvitim listom pod vršičkom. Vzorce smo zamrznili pri -20°C , jih liofilizirali in ponovno shranili pri -20°C , dokler jih nismo zmleli z mlinčkom na hlajenje. Zmlet rastlinski material smo shranili v rjavih posodicah, jih označili ter ponovno shranili pri -20°C , dokler nismo začeli z analizami.

Analize fenolov so bile opravljene v laboratoriju Katedre za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo Oddelka za agronomijo, Biotehniške fakultete. Vzorce smo analizirali s sistemom HPLC (visokoločljivostne tekočinske kromatografije), proizvajalca Thermo Separation Products (TSP) po metodi Scalbert-a s sod. (1988). Uporabili smo standarde kavine kisline, klorogenske kisline, naringerina in miricitina proizvajalca Sigma-Aldrich Chemical Co.

Analize pigmentov so bile opravljene v laboratoriju Katedre za aplikativno botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in informatiko Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete po metodi, ki jo je opisal Pfeifhofer (1989). Koncentracijo pigmentov smo izračunali po metodi eksterne standarda. Uporabili smo naslednje standarde: klorofil a, klorofil b

(proizvajalec FLUKA), lutein, violaksantin, anteraksantin, neoksantin in β -karoten (proizvajalec DHI-Walter and Environment, Denmark).

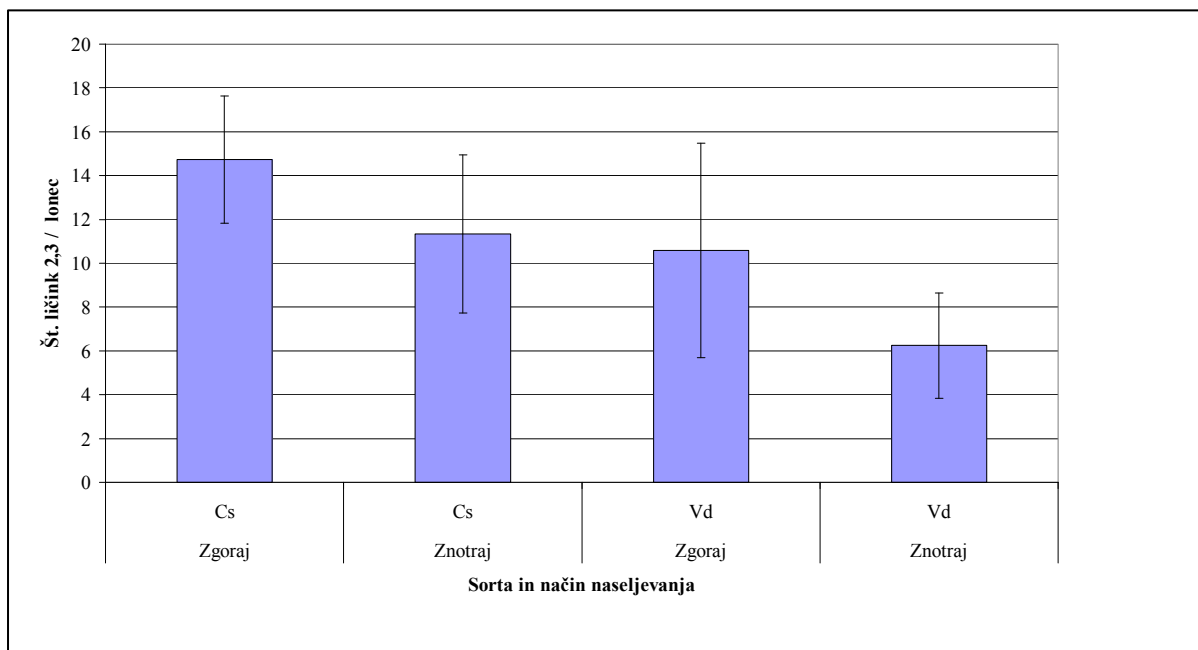
Razlike v vsebnosti fenolnih spojin in pigmentov med sortama ter načinom namakanja (v letu 2003) smo ugotavljali z analizo variance s 5 % tveganjem. V letu 2004 smo samo pri enem načinu namakanja (poplavno) z večkratnim vzorčenjem iz istih rastlin ugotavljali, kako se je s časoma spreminjala povprečna vsebnost klorogenske kisline v listih obeh sort krizantem ('Veria Dark' in 'Cassablanca'). Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili računalniški program STATGRAPHICS Plus 4.0 in računalniški program Microsoft Excel 2000.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V poskus smo vključili dve sorti krizantem 'Veria Dark' in 'Cassablanca White', pri katerih je bila občasno na cvetovih opažena, navadna pršica (Gomzi, 2003). Iz dostopnih virov nismo mogli ugotoviti, ali sta navedeni sorti občutljivi za navadno pršico ali sta tolerantni.

V letu 2003 se navadna pršica na kontrolnih in načrtno naseljenih rastlinah ni pojavila oziroma množila in nimamo o tem številčnih podatkov. V letu 2004 se na kontrolnih krizantemah pršica ni pojavila, na načrtno naseljenih je bil napad slab (slika 1) in na njih ni bilo vidnih poškodb.

ANOVA na transformiranih podatkih za število ličink prve levitvene faze (ličinke 1), za število ličink druge in tretje levitvene faze (ličinke 2,3) ni pokazala statistično značilnih interakcij med sortama in načinom naseljevanja.



Slika 1: Prikaz povprečnega števila ličink navadne pršice (*Tetranychus urticae* Koch) druge in tretje levitvene faze po obravnavanjih (način naseljevanja zgoraj in znotraj grmička krizanteme, Cs = 'Cassablanca White', Vd = 'Veria Dark')

Figure 1: The average number of twospotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) second- and third-stage larvae according to treatments (colonization on and inside the chrysanthemums shrubs; Cs = 'Cassablanca White', Vd = 'Veria Dark')

Pri obeh sortah krizantem smo določili naslednje fenole: kavino in klorogensko kislino ter naringerin in miricetin. Fenolne snovi so pomemben dejavnik pri obrambi rastlin pred škodljivimi organizmi, še posebej je bila v naši raziskavi pomembna klorogenska kislina, za katero so dokazali, da ima toksičen učinek na žuželke (Benninger in Hall, 2004). Menimo, da

sta sorti krizantem 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' tolerantni na navadno pršico oz. se pršica nanju naseli, vendar je razvoj zelo počasen. Naša ugotovitev se ujema z navedbami Larsona (1982), ki je v svojih raziskavah spremljal vpliv fenolov na razvoj navadne pršice. Fenoli značilno vplivajo na uspeh reprodukcije navadne pršice. Če vsebnost fenolov naraste, potem se število odloženih jajčec zmanjša. Tako navadna pršica ne more ogroziti rastlin in se že pred cvetenjem njena populacija zelo zmanjša. Klorogenska kislina je s starostjo obeh preučevanih sort krizantem 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' v listih naraščala. Med sortama pa ni bilo statistično značilnih razlik. Pri sorti 'Cassablanca White' od $12,12 \pm 0,75$ do $22,90 \pm 1,90$ mg/g suhe mase in pri sorti 'Veria Dark' od $11,05 \pm 0,68$ do $23,68 \pm 0,48$ mg/g suhe mase.

Rezultate za leto 2003 podajamo v Preglednici 1 s standardno napako povprečja meritev. Analiza listov krizantem na vsebnost kavine kisline in miricetina je pokazala, da se povprečja po obravnavanjih ne razlikujejo. Povprečna vsebnost klorogenske kisline se med sortama razlikuje. 'Veria Dark' vsebuje več klorogenske kisline kot 'Cassablanca White'. Način namakanja malenkostno vpliva na povprečno vsebnost klorogenske kisline ($p = 0,056$). Ni pa medsebojnih vplivov med sorto in načinom namakanja ($p > 0,05$).

Preglednica 1: Povprečna vsebnost analiziranih fenolov (mg/g suhe mase) in standardna napaka povprečja meritev v listih krizantem (Cs = 'Cassablanca White' in Vd = 'Veria Dark') glede na način namakanja (K = kapljično, P = poplavno; podatki za leto 2003)

Table 1: Average level of analysed phenolics (mg/g of dry mass) and standard measurement error of data averages in chrysanthemum (Cs = 'Cassablanca White' and Vd = 'Veria Dark') leaves according to irrigation types (K = drop, P = flood; data for 2003)

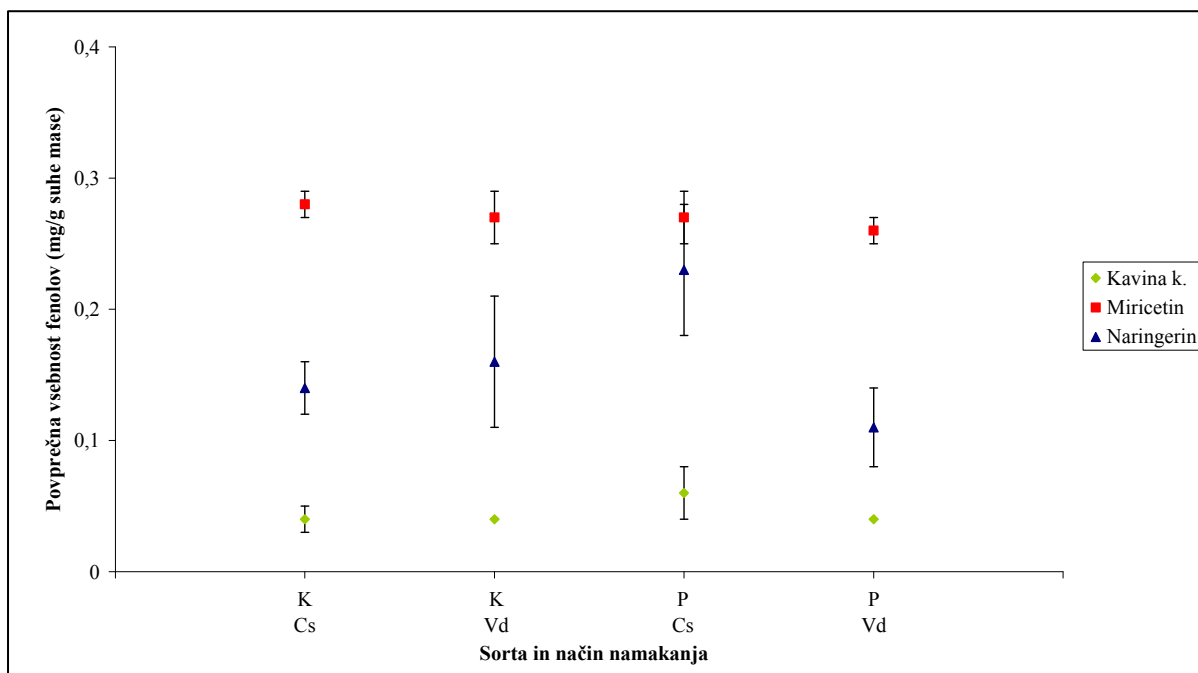
Sorta	'Cassablanca White'		'Veria Dark'	
	K	P	K	P
Način namakanja				
Kavina kislina	$0,04 \pm 0,01^*$	$0,06 \pm 0,00$	$0,04 \pm 0,02$	$0,04 \pm 0,00$
Klorogenska kislina	$13,43 \pm 0,01$	$16,65 \pm 0,02$	$17,47 \pm 0,02$	$18,72 \pm 0,01$
Naringerin	$0,28 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,05$	$0,27 \pm 0,05$	$0,16 \pm 0,03$
Miricitin	$0,14 \pm 0,77$	$0,23 \pm 1,47$	$0,16 \pm 1,24$	$0,11 \pm 0,98$

*standardna napaka povprečja meritev

Pri analizi naringerina se je pokazala interakcija med obravnavanji. Glede na to, da glavni obravnavanji (sorta in način namakanja) posamezno ne vplivata na povprečno vsebnost naringerina, se njegova koncentracija spremeni pri poplavnem načinu namakanja. Krizantema 'Cassablanca White' tako vsebuje več naringerina kot krizantema 'Veria Dark'.

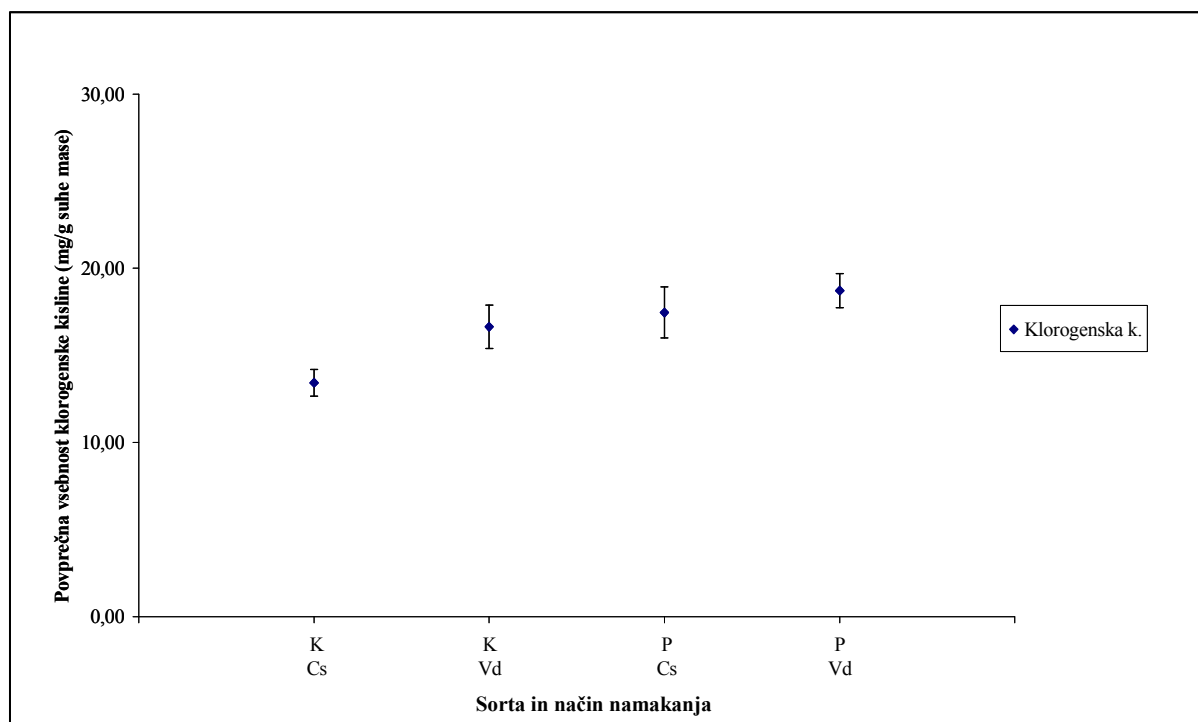
Povprečno vsebnost analiziranih fenolnih spojin (mg/g suhe mase) in standardno napako povprečja meritev v listih krizantem 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' pri dveh načinih namakanja prikazujeta Sliki 2 in 3. Med sortama in načinoma namakanja ni bilo statistično značilnih razlik v količini fenolov (kavine kisline, miricetina in naringerina).

Tudi v letu 2004 je analiza variance pokazala, da se povprečne vsebnosti kavine kisline, naringerina in miricetina po obravnavanjih ne razlikujejo. Med sortama 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' ni statistično značilnih razlik ($p > 0,05$). Klorogenske kisline pa je v bilo v tem letu manj pri krizantemi 'Veria Dark', kar je prav nasprotno kot v letu 2003. Razlike v posameznih letih (2003 in 2004) so se pokazale kot naključje.



Slika 2: Povprečna vsebnost fenolnih spojin v listih krizantem (mg/g) glede na sorto (Cs = 'Cassablanca White' in Vd = 'Veria Dark') in glede na način namakanja (K = kapljično, P = poplavno)

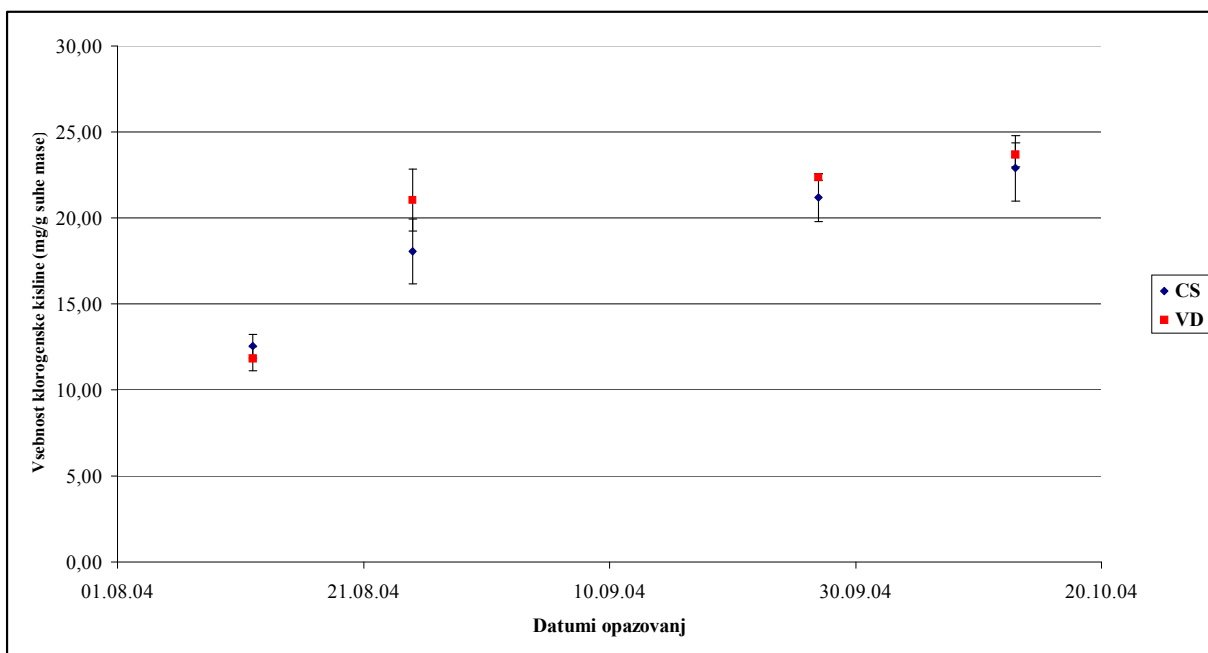
Figure 2: Average levels of phenolics compounds in chrysanthemum leaves (mg/g) according to variety (Cs = 'Cassablanca White' and Vd = 'Veria Dark') and irrigation type (K = drop, P = flood)



Slika 3: Povprečna vsebnost klorogenske kisline v listih krizantem (mg/g) glede na sorto (Cs = 'Cassablanca White' in Vd = 'Veria Dark') in glede na način namakanja (K = kapljično, P = poplavno)

Figure 3: Average levels of chlorogenic acid in chrysanthemum leaves (mg/g) according to variety (Cs = 'Cassablanca White' and Vd = 'Veria Dark') and irrigation type (K = drop, P = flood)

Slika 4 prikazuje vsebnost klorogenske kisline v obeh sortah krizantem pri različnih naključno izbranih terminih vzorčenja. Iz slike je razvidno, da povprečna vsebnost klorogenske kisline s starostjo krizantem narašča ($p = 0,00$). ANOVA pa je pokazala, da med sortama ni statistično značilnih razlik. Pri prvem vzorčenju (12. 8. 2004) je bila povprečna vsebnost klorogenske kisline najmanjša, pri drugem vzorčenju (25. 8. 2004) se je povprečna vsebnost kisline povečala, medtem ko pri zadnjih dveh opazovanjih (27. 9. 2004 in 13. 10. 2004) ni bilo statistično značilnih razlik v povprečnih vsebnostih.



Slika 4: Povprečna vsebnost klorogenske kisline in standardna napaka povprečja meritev pri sortah krizantem 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' v letu 2004

Figure 4: Chlorogenic acid average levels and standard measurement error of data averages in 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' varieties in 2004

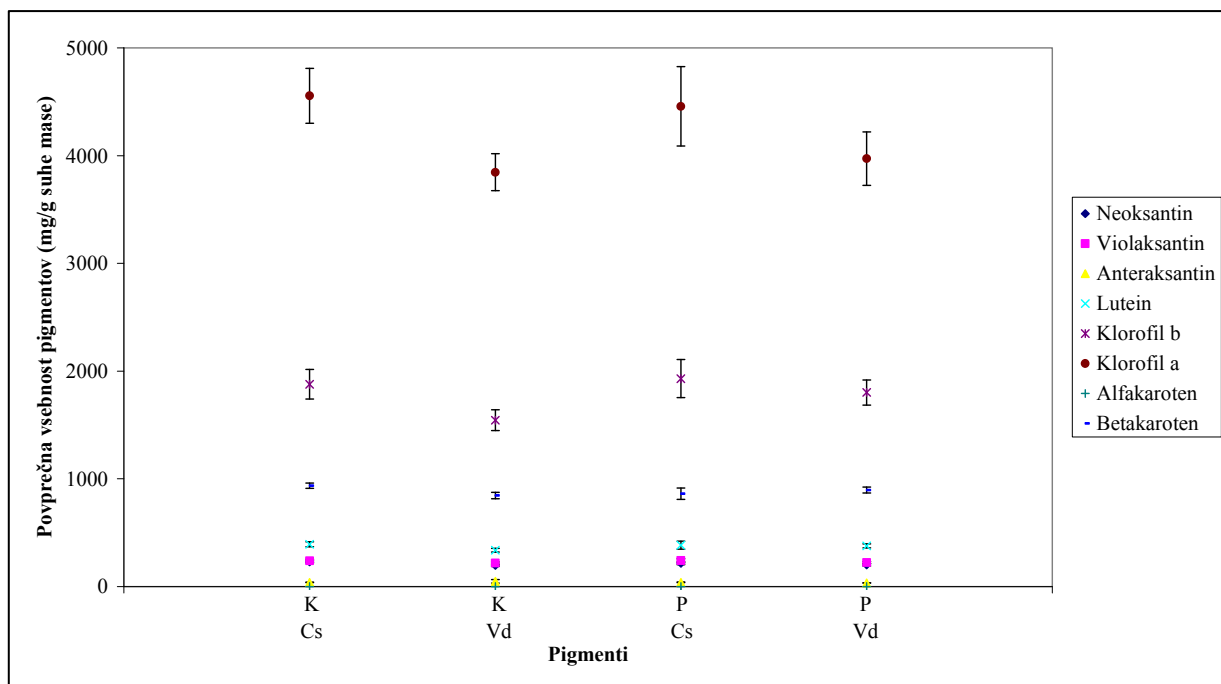
Preglednica 2: Povprečna vsebnost analiziranih pigmentov ($\mu\text{g/g}$ suhe mase) v listih krizantem (Cs = 'Cassablanca White' in Vd = 'Veria Dark') glede na način namakanja (K = kapjično in P = poplavno namakanje; podatki za leto 2003)

Table 2: Average level of analysed pigments ($\mu\text{g/g}$ of dry mass) in chrysanthemum (Cs = 'Cassablanca White' and Vd = 'Veria Dark') leaves according to irrigation types (K = drop irrigation, P = flood irrigation; data for 2003)

Sorta / način namakanja Pigmenti	'Cassablanca White'		'Veria Dark'	
	K	P	K	P
Neoksantin	229,53 ± 10,49*	216,56 ± 13,35	195,64 ± 9,19	201,24 ± 9,34
Violaksantin	240,14 ± 13,67	241,33 ± 17,48	218,37 ± 8,81	222,76 ± 8,04
Anteraksantin	38,43 ± 2,19	39,13 ± 2,19	48,78 ± 16,59	33,30 ± 1,79
Lutein	392,59 ± 23,78	383,51 ± 36,66	336,99 ± 17,49	376,87 ± 17,97
Klorofil a	4556,52 ± 254,83	4457,66 ± 367,96	3845,77 ± 171,20	3972,69 ± 248,41
Klorofil b	1877,17 ± 137,97	1929,66 ± 176,70	1544,33 ± 96,71	1801,37 ± 116,05
Alfakaroten	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,10	0,10 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Betakaroten	935,57 ± 24,22	862,38 ± 52,36	844,29 ± 30,44	895,45 ± 27,87

* Standardna napaka povprečja meritev

V letu 2003 smo primerjali vsebnost pigmentov v listih krizantem 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' med kapljičnim in poplavnim načinom namakanja. Ugotovili smo, da se povprečne vsebnosti neoksantina, violaksantina, anteraksantina, luteina, klorofila a, klorofila b, in betakarotena pri krizantemi 'Veria Dark' ne razlikujejo od povprečne vsebnosti fenolov pri krizantemi 'Cassablanca White'. Tudi način namakanja ne vpliva na spremembo povprečne vsebnosti nekaterih pigmentov obeh sort. Analiza variance podatkov iz leta 2004 potrjuje, da med sortama 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' ni statistično značilnih razlik med povprečnimi vsebnostmi analiziranih pigmentov. Preglednica 2 in Slika 5 prikazujeta poleg povprečnih vsebnosti analiziranih pigmentov tudi standardno napako povprečja meritev.



Slika 5: Povprečna vsebnost pigmentov v krizantemah vzorčenih v letu 2003 (neoksantin, violaksantin, anteraksantin, lutein, klorofil b, klorofil a, alfakaroten in betakaroten) pri dveh različnih sortah krizantem (Cs = 'Cassablanca White', Vd = 'Veria Dark') glede na način namakanja (K = kapljično in P = poplavno)

Figure 5: Average levels of pigments in chrysanthemums sampled in 2003 (neoxanthin, violaxanthin, antheraxanthin, lutein, chlorophyll b, chlorophyll a, alpha-carotene, beta-carotene) in two chrysanthemum varieties (Cs = 'Cassablanca White' and Vd = 'Veria Dark') according to irrigation type (K = drop, P = flood)

4 SKLEPI

Na podlagi rezultatov, ki smo jih dobili z opravljeno raziskavo podajamo naslednje sklepe:

1. Značilnih razlik v dovzetnosti krizantem 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' za navadno pršico (*Tetranychus urticae* Koch) nismo ugotovili.
2. Meritve vsebnosti posameznih fenolov (miricetin in naringerin) in fenolnih kislin (kavina kislina in klorogenska kislina) so pokazale, da med sortama ni razlik. Obe sorti vsebujeta daleč največ klorogenske kisline.
3. Količina fenolov naringerin, miricetin in kavina kislina se v listih krizantem obeh sort 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' s starostjo zmanjšuje.
4. Vsebnost klorogenske kisline s starostjo obeh sort krizantem narašča, kar pripomore k tolerantnosti rastlin na navadno pršico (*Tetranychus urticae* Koch).
5. Med sortama krizantem 'Veria Dark' in 'Cassablanca White' ni statistično značilnih razlik med povprečnimi vsebnostmi analiziranih pigmentov.

5 LITERATURA

- Ahmad S. 1992. Biochemical defence of pro-oxidant plant allelochemicals by herbivorous insects. *Biochemical Systematics and Ecology*, 20, 4: 269-296.
- Ahmad S., Pardini R.S. 1990. Mechanisms for regulating oxygen toxicity in phytophagous insects. *Radical Biology and Medicine*, 8, 4: 401-413.
- Beninger W.C., Hall J.C. 2004. Allelopathic activity of luteolin 7-O-b-glucuronide isolated from *Chrysanthemum morifolium* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2004: 2-9.
- Cabrera H.M., Argandoña V.H., Zuñiga G.E., Corcuera L.J. 1995. Effect of infestation by aphids on the water status of barley and insect development. *Phytochemistry*, 40, 4: 1083-1088.
- Gomzi M. 2003. »Tehnologija gojenja lončnih krizantem«. Podbrezje, Vrtnarija Gomzi (osebni vir, junij 2003).
- Harborne J.B. 1980. Plant phenolics. V: *Encyclopedia of Plant Physiology*. Vol. 8. Secondary Plant Products, 1980. Bell E.A., Charlwood B.V. (ur.). Berlin Heidelberg New York, Springer-Verlag: 329-402.
- Kiekiewicz M./Van de Vrie M. 1990. Within-leaf differences in nutritive value and defence mechanism in chrysanthemum to the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). *Experimental & Applied Acarology*, 10: 33-43.
- Lamparter B. 1992. Nützlingseinsatz im Gemüsebau unter Glas. Braunschweig, Thalacker: 70 str.
- McMahon M.J./ Kelly J.W. 1995. Anatomy and Developed pigments of chrysanthemum leaves under spectrally selective filters. *Scientia Horticulturae*, 64: 203-209.
- Parlevliet G./Learmonth S./Hardie D./Botha J. 2002. Understanding the Twospotted spider mite (*Tetranychus urticae*) on Cutflowers in Glasshouse. <http://agspsrv34.agric.wa.gov.au/programs/hort/floriculture/twospot.htm> (5.marec 2004).
- Petridou M., Voyiatzi C., Voyiatzis D. 2001. Methanol, ethanol and other compounds retard leaf senescence and improve the vase life and quality of cut chrysanthemum flowers. *Postharvest Biology and Technology*, 23: 79-83.
- Pieters D. 2002. Gediflora 2002, Selection de chrysanthèmes. Oostnieuwkerke (België), Floramedia: 35 str.
- Remic M. 2006. Dejavniki, ki vplivajo na naselitev navadne pršice (*Tetranychus urticae* Koch) na krizanteme *Chrysanthemum* 'Veria Dark' in 'Cassablanca White'. V: Magistrsko delo. Dejavniki, ki vplivajo na naselitev navadne pršice (*Tetranychus urticae* Koch) na krizanteme *Chrysanthemum* 'Veria Dark' in 'Cassablanca White'. Ljubljana: 106 str. (neobjavljeno).
- Scalbert A., Monties B., Favre J. M. 1988. Polyphenols of *Quercus robur*: adult tree and *in vitro* grown calli and shoots. *Phytochemistry*, 27, 11: 3483-3488
- Shahidi F., Naczki M. 1995. Food phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications. Lanchester, Basel, Technometric Publishing Company: 321 str.
- Stavriniades M. C./Skirvin D. J. 2003. The effect of chrysanthemum leaf trichome density and Prey spatial distribution on predation of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) by *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *Bulletin of Entomological Research*, 93, 4: 343-350.
- Tanigoshi L. K./Martin N. A./Osborne L. S./Peña J. E. 2001. Biological Control of Spider Mites on Ornamental Crops. Ball Publishing, Batavia, 9: 185-199.
- Tuenter A. 2002. Chrysanthenen 2002. Isselburg (Deutschland), Brandkamp GmbH: 38 str.
- Vogelmann A. 1969. Chrysanthenen. Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer: 315 str.
- Vrabl S. 1992. Škodljivci poljščin. Ljubljana, Kmečki glas: 144 str.

VREDNOTENJE REPELENTNIH LASTNOSTI IZBRANIH RASTLINSKIH IZVLEČKOV Z NOVO RAČUNALNIŠKO APLIKACIJO

Helena ROJHT¹, Stanislav TRDAN²

IZVLEČEK

Poleti 2008 smo s pomočjo zunanjega sodelavca razvili računalniški program, ki zapisuje premike objekta v nekem prostoru. Prostor, ki ga ima testirani organizem na voljo, je razdeljen v 5 aren, in sicer v osrednjo in na štiri stranske, znotraj katerih so izbrani rastlinski izvlečki, ki so nanoseni na liste. Premiki organizma se zapisujejo časovno in glede na koordinate arene/prostora. Premiki se tudi grafično izrisujejo na sliko arene v obliki sledi/črte. Čas zadrževanja je izražen v odstotkih. S programom smo želeli ugotoviti repelentne ali insekticidne lastnosti rastlinskih snovi (etanolni ekstrakt vinske rutice [*Ruta graveolens*], α + β -tujon, kafra) na koloradskega hrošča. Iz sledi, ki so jih naredili osebki (ličinke ali odrasli hrošči), lahko povzamemo, da je najbolj repelentno deloval ekstrakt rutice, saj so se osebki najmanj časa zadrževali v bližini lista, ki je bil pomočen v to snov. V povprečju so se osebki koloradskega hrošča najdlje zadrževali na kontrolnem listu.

Ključne besede: računalniška aplikacija, repelentne lastnosti, rastlinski izvlečki

ABSTRACT

EVALUATION OF REPELENT PROPERTIES OF SOME PLANT EXTRACTS USING NEW COMPUTER APPLICATION

In summer 2007 software application was developed with the aim to monitor all changes in motion of the test organisms. Observation area is divided in 5 regions, one central (include wet tampon, on which test organism is placed) and 4 off side (which include plants treated with single extract). Movement changes in time and coordinate of experimental bug is written down. On picture, red line represents the movement of test organisms; staying time in separate arena is expressed in percentage. With this program we wanted to establish insecticidal or repellent property of selected plant components (ethanol extract of common rue [*Ruta graveolens*], α + β -thujone and camphor) on Colorado potato beetle. From pest tracks it can be concluded that the most repellent substance for adult and larvae of Colorado potato beetle was common rue. In majority of time the presence of pests were on control eggplant leaf.

Key words: computer application, repellent properties, plant extracts

1 UVOD

Koloradski hrošč ostaja glavni škodljivec pri pridelavi krompirja (Hare, 1990). Zaradi hitrega razvoja rezistence, vse manjšega števila registriranih insekticidov in podnebnih sprememb, v smislu naraščanja temperature (potencialni pojav večjega števila rodov), je potrebno nujno razvijati nove načine zatiranja teh škodljivcev. Pripravke iz rastlin, ki so jih uporabljali nekoč, so že pred nekaj leti večinoma izpodrinili sintetični insekticidi. Število slednjih pa se v zadnjih letih naglo zmanjšuje, zato je uporaba okolju prijaznih načinov zatiranja škodljivcev spet zaželena (Jovanović in sod., 2007).

¹ mag., mlada raziskovalka, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² izr. prof., dr., prav tam

Vinska rutica (*Ruta graveolens*) deluje insekticidno (Benedicto in sod., 1998) in odvrčalno na nekatere žuželke (Landolt in sod., 1999). Tujon ($C_{10}H_{16}O$) je ciklični keton in je sestavni del eteričnih olj (Petauer, 1993). Najdemo ga v številnih rastlinskih vrstah, kot so: pravi pelin (*Artemisia absinthium* L.), navadni pelin (*A. vulgaris* L.), žajbelj (*Salvia officinalis* L.), muškarna kadulja (*S. sclarea* L.), navadni vratič (*Tanacetum vulgare* L.) in ameriški klek (*Thuja occidentalis* L.) (Albert-Puleo, 1978). Tujon deluje na žuželke repelentno (Hwang in sod., 1985). Kafra ($C_{10}H_{16}O$) je sestavni del eteričnih olj drevesa *Cinnamomum camphora* in nekaterih drugih predstavnikov iz družine Laurus in deluje repelentno na žuželke (Al-Jabr, 2008).

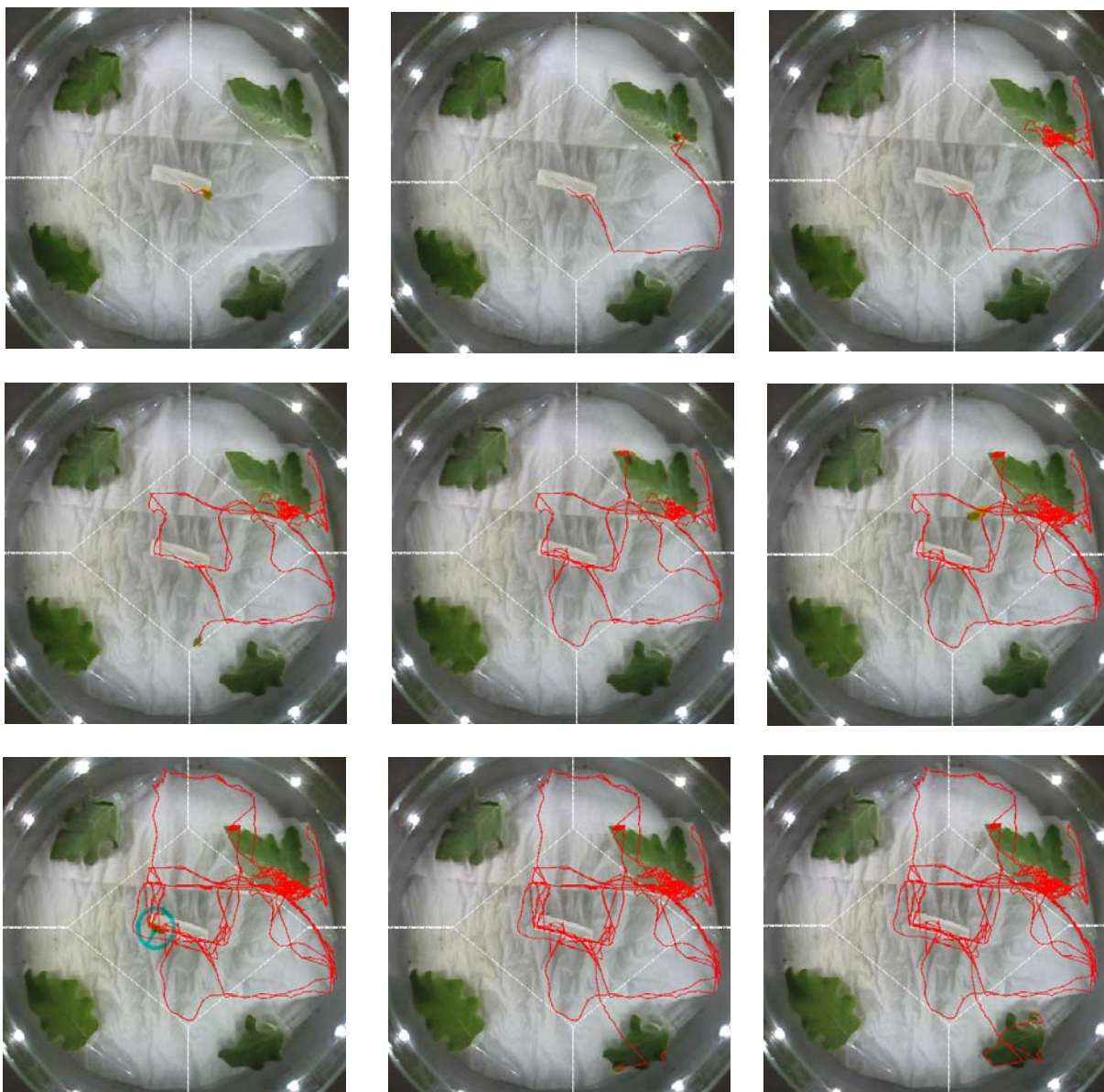
2 MATERIAL IN METODE DELA

Prikazana metoda spremljanja repelentnih lastnosti izbranih snovi se imenuje »Choice test«. Izvajali smo jo z računalniškim programom, katerega sistem je sestavljen iz CCD digitalne kamere z ločljivostjo 1,3 milijona točk in osebnega računalnika, ki obdeluje sliko iz kamere v realnem času. Prostor, ki ga ima testirani organizem na voljo, je razdeljen v 5 aren, in sicer v osrednjo in na štiri stranske, znotraj katerih so izbrani rastlinski izvlečki, ki so naneseni na liste. Premiki organizma se zapisujejo časovno in glede na koordinate prostora. Premiki se tudi grafično izrisujejo na sliko arene v obliki črte. Čas zadrževanja je izražen v odstotkih. Z belo podlago, ki smo jo namestili na dno arene, smo preprečili odboje svetlobe in s tem eliminirali motnje. V sredino vsake stranske arene smo položili list jajčevca, pomočenega v posamezno snov. Uporabili smo etanolni ekstrakt vinske rutice in dve čisti snovi pridobljeni iz rastlin, in sicer tujon in kafro. Na sredo arene smo postavili tampon, na katerega smo dali testni organizem.

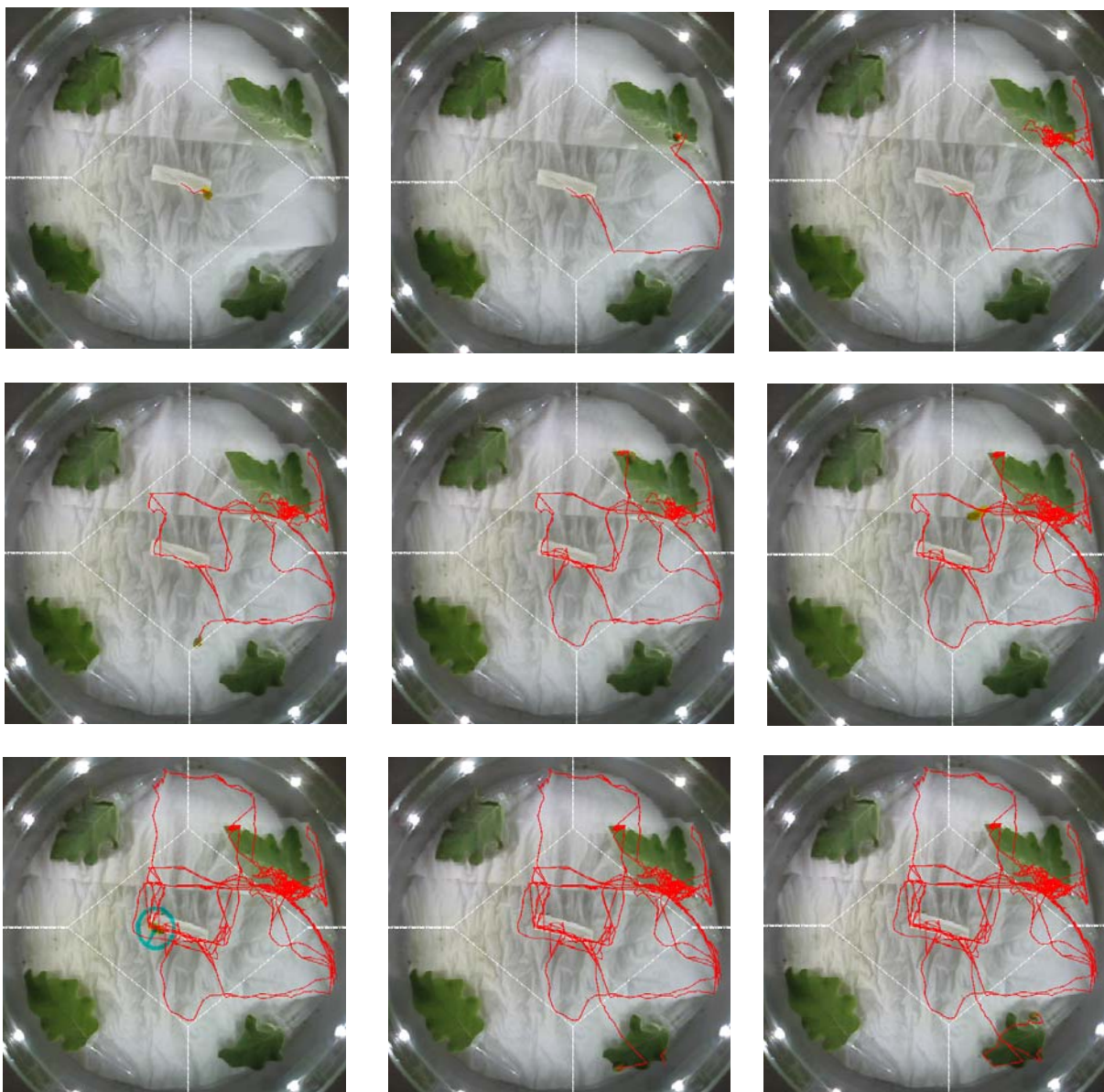
3 REZULTATI Z DISKUSIJO

Iz slike 1 je razvidno, da se je ličinka koloradskega hrošča usmerila stran od listov, ki sta oddajala najmočnejši vonj (tujon in vinska rutica) in se ju tekom celotnega spremljanja ni približevala. Najprej se je približevala kontrolnemu listu, nato pa se je odločila za list pomočen v kafro, na katerem se je prehranjevala približno 2 uri. Predvidevamo, da je bila koncentracija kafe, ki smo jo nanesli na list premajhna in je prehitro izhlapela iz površine lista jajčevca. Površina lista je bila še zmeraj omočena, zato je bila bolj privlačna kot kontrolni list, ki ga nismo omočili z vodo. V kasnejših ponovitvah smo kontrolni list omočili in škodljivec se je odločil za njega prej kot za kafro. Po prehranjevanju, se je ličinka odločila za kontrolni list in se do konca poskusa zadrževala na njem (22,6 % vsega časa). Iz sledi je jasno razvidno repelentno delovanje tujona in vinske rutice, saj se ju je ličinka vidno izogibala.

Slika 2 prikazuje pot odraslega osebka koloradskega hrošča. Škodljivec se je najprej usmeril proti kontrolnemu listu na katerem se ni prehranjeval, ampak je pot nadaljeval proti vinski rutici. Po listu se je sicer premikal, vendar ga ni objedel. Pot je nadaljeval proti listu pomočenim v tujon, vendar ga je njegov vonj odvrčal, zato se je, preden je sploh dosegel list jajčevca, zopet usmeril proti listu z vinsko rutico. Ker mu površina lista ni ustrezala, je pot nadaljeval ponovno proti listu s tujonom, ki ga je ponovno odvrčal, zato je zavil proti kontrolnemu listu. Po njegovi površini je prispel do lista pomočenega v kafro. Po nekaj minutnem zadrževanju na njem, se je hrošč do konca poskusa prehranjeval na kontrolnem listu, kjer je tudi preživel 93,7 % vsega časa. Tudi v tem primeru je jasno vidno repelentno delovanje tujona, manj rutice, vendar sta obe snovi uspešno preprečili objedanje listne površine.



Slika 1: Prikaz poti, ki jo je naredila ličinka koloradskega hrošča v 3 urah in 10 minutah. Posamezne slike so posnete po: 5, 10, 60, 65, 80, 115, 130, 140 in 190 min. Na slikah je tujon zgoraj levo, kafa zgoraj desno, vinska rutica spodaj levo in kontrolni list spodaj desno.



Slika 2: Prikaz poti, ki jo je naredil odrasel osebek koloradskega hrošča v 18 urah in 40 minutah. Posamezne slike so posnete po: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 180, 285 in 1120 min. Na slikah je kontrolni list zgoraj levo, kafa zgoraj desno, vinska rutica spodaj levo in tujon spodaj desno.

4 SKLEPI

Iz sledi, ki so jih naredili osebki (ličinke ali odrasli hrošči), lahko povzamemo, da je najbolj repelentno deloval ekstrakt vinske rutice, saj so se osebki najmanj časa zadrževali v bližini lista, ki je bil pomočen v to snov. Tudi tujon je odvrčal škodljivca, vendar je bil hkrati tudi popolnoma fitotoksičen in kot tak tudi iz tega vidika neprivlačen za koloradskega hrošča. V povprečju so se osebki koloradskega hrošča najdlje zadrževali na kontrolnem listu. Iz vseh rezultatov choice testa, ki smo jih pridobili med tem poskusom, lahko povzamemo, da se je najbolje izkazal etanolni ekstrakt vinske rutice, ki je zadovoljivo odvrčal škodljivca in hkrati ni bil fitotoksičen za liste jajčevca, zato bomo v prihodnje ta ekstrakt preizkusili tudi v poljskem poskusu.

5 LITERATURA

- Al-Jabr A. M. 2008. Toxicity, repellency and bioactivity of seven plant oils to storage pest *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) on wheat. *Journal of Food Science and Technology*, 45: 520-523
- Albert-Puleo M. 1978. Mythobotany, pharmacology, and chemistry of thujone-containing plants and derivatives. *Journal of Economic Botany*, 32: 65-74
- Benedicto L. H., Bergmann E. C., Potenza M. R., Sato M. E., Nishimori R. K. 1998. Evaluation of the control of *Opogona sacchari* (Bojer, 1856) (Lepidoptera: Tineidae) using plant extracts in laboratory conditions. *Arquivos do Instituto Biologico (Sao Paulo)*, 65: 21-27
- Landolt P. J., Hofstetter R. W., Biddick L. L. 1999. Plant essential oils as arrestants and repellents for neonate larvae of the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, 28: 954-960
- Petauer T. 1993. Leksikon rastlinskih bogastev. Tehniška založba Slovenije, 684 str.
- Hwang Y. S., Wu K. H., Kumamoto J., Axelrod H., Mulla M. S. 1985. Isolation and identification of mosquito repellents in *Artemisia vulgaris*. *Journal of Chemical Ecology*, 11: 1297-1306
- Hare J. D. 1990. Ecology and management of the Colorado potato beetle. *Annual Review of Entomology*, 35: 81-100
- Jovanović Z., Kostić M., Popović Z. 2007. Grain protective properties of herbal extracts against the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* Say. *Industrial Crop and Products*, 26: 100-104

UGOTAVLJANJE ODPORNOSTI KOLORADSKEGA HROŠČA (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) V SLOVENIJI NA IZBRANE INSEKTICIDE

Meta URBANČIČ ZEMLJIČ¹, Erich JÖRG², Paulo RACCA³, Gregor UREK⁴, Stanislav TRDAN⁵

^{1,4}Kmetijski inštitut Slovenije

²Ministry for economics, transport, agriculture and viticulture. Unit 8508 - Arable farming, plant and soil protection, plant protection service, Mainz, Nemčija

³Zentralstelle der Länder für EDV-gestützte Entscheidungshilfen und Programme im Pflanzenschutz (ZEPP), Nemčija

⁵Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

Zatiranje z insekticidi je že dolgo najpomembnejši način varstva krompirja pred koloradskim hroščem (*Leptinotarsa decemlineata* Say). Ta je v območjih z intenzivnim kmetovanjem razvil odpornost proti vsem skupinam sintetičnih insekticidov. V raziskavi, ki je potekala med leti 2006 in 2008 smo ugotavljali občutljivost slovenskih populacij koloradskega hrošča na insekticid lambda-cihalotrin (sintetični piretroid), klorpirifos (organofosforni ester) in imidakloprid (neonikotinoid). V skladu z izbrano metodo (IRAC 7 – Insecticide Resistance Action Comitee) smo žuželke izpostavljali različnim koncentracijam insekticidov in ugotavljali njihovo smrtnost v laboratorijskih razmerah. Za različne populacije koloradskega hrošča smo izračunali koncentracije aktivnih snovi, pri katerih dosežemo 95 % smrtnost škodljivca (LD₉₅). Visoke vrednosti LD₉₅ smo največkrat ugotovili pri insekticidu lambdacihalotrin, razlike v občutljivosti populacij koloradskega hrošča smo ugotovili tudi pri insekticidu klorpirifos, medtem ko je bila učinkovitost neonikotinskega insekticida imidakloprid povsod zelo visoka, tudi pri zelo nizkih koncentracijah.

Ključne besede: koloradski hrošč, rezistenca, insekticidi, Slovenija

ABSTRACT

RESEARCH ON INSECTICIDE RESISTANCE OF COLORADO POTATO BEETLE (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) IN SLOVENIA

Insecticide spraying has been the most important way of control of the Colorado potato beetle (CPB) for many years. The insect became resistant against all groups of synthetic insecticides used for his control in the regions with intensive agriculture. During the years 2006 to 2008 the sensitivity of Slovenian CPB populations to lambda-cyhalothrin (pyrethroid), chlorpyrifos (organophosphate) and imidacloprid (neonicotinoid) was investigated. According to selected methodology (IRAC no.7 – Insecticide Resistance Action Committee), larvae of CPB were exposed to different concentrations of selected insecticides in laboratory conditions. The mortality of insects and the LD₉₅ values were calculated for different

¹ univ. dipl. inž. agr., Hacquetova 17, SI-1001 Ljubljana

² dr., Stiftsstr. 9, D-55116 Mainz, Germany

³ dr., Rüdeshheimer Str. 68, D-55545 Bad Kreuznach, Nemčija

⁴ doc. dr., univ. dipl. inž. agr., Hacquetova 17, SI-1001 Ljubljana

⁵ prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

populations of CPB. In most cases high LD₉₅ values were calculated for lambda-cyhalothrin and in some cases also for chlorpirifos. The efficacy of imidacloprid was high in all cases even at very low concentrations.

Ključne besede: Colorado potato beetle, resistance, insecticides, Slovenia

1 UVOD

Kemično zatiranje koloradskega hrošča je reden varstveni ukrep za varstvo krompirišč. Škodljivec ima izjemno sposobnost prilagajanja razmeram v okolju, kar velja tudi za insekticide (Hare, 1990). V ZDA je razvil odpornost proti vsem skupinam sintetičnih insekticidov, o odpornosti na različne skupine sredstev poročajo tudi iz več evropskih držav (Forgash 1985, French 1992, Jörg 1998, Jörg in sod. 2003, Maceljki 1995, Olson 2000, Stanković in sod. 2004). V Sloveniji je bila leta 1967 dokazana odpornost proti kloriranim ogljikovodikom (Hržič in sod. 1967, Maceljki 1995), kasneje pa raziskav, ki bi potrdile ali ovrgle razvoj odpornosti koloradskega hrošča na najpomembnejše skupine insekticidov skorajda ni bilo. S hitrim testom je bila v letih 1997 in 1998 pri populaciji koloradskega hrošča iz okolice Ljubljane nakazana možnost pojava odpornosti na fosalon in kvinalfos iz skupine organskih fosforjevih insekticidov ter alfametrina iz skupine sintetičnih piretroidov (Dolničar in sod., 1998). V raziskavi smo želeli ugotoviti, kakšno je stanje v Sloveniji glede odpornosti tega škodljivca na nekatere pomembne skupine insekticidov.

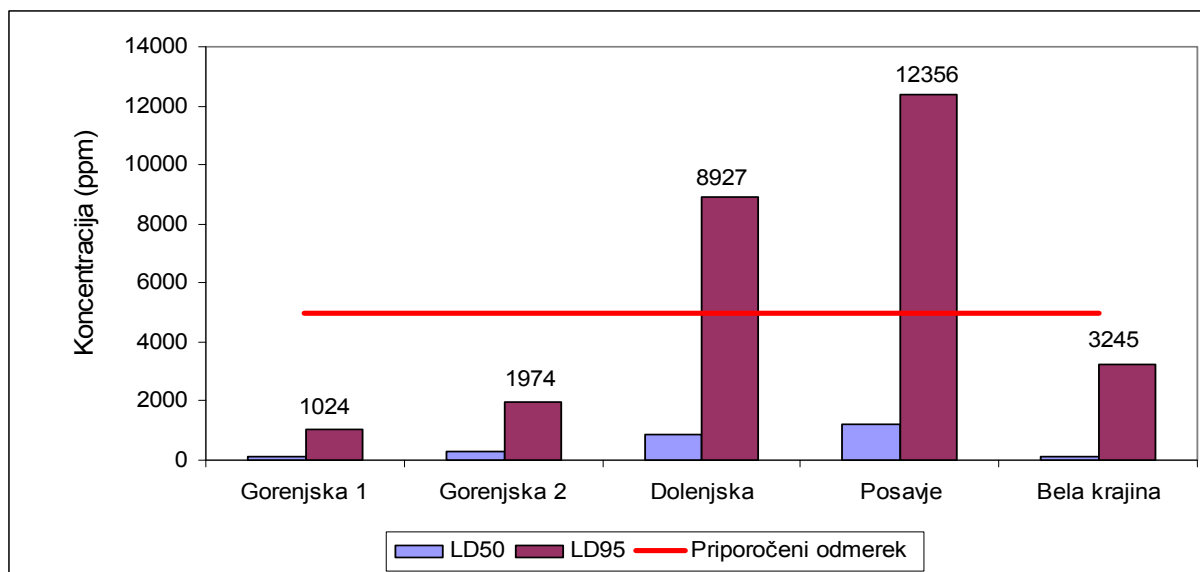
2 MATERIAL IN METODE

V letih 2006 in 2007 smo na različnih območjih Slovenije nabirali populacije koloradskega hrošča in v laboratorijskih razmerah ugotavljali morebitno odpornost na izbrane insekticide. Preizkušali smo organski fosforjev ester klorpirifos (pripravek dursban E- 48), sintetični piretroid lambda-cihalotrin (karate zeon 5 CS) in neonicotinoid imidakloprid (confidor SL 200). Uporabili smo metodo IRAC št. 7, ki je bila pri IRAC (Insect Resistance Action Committee) razvita za ugotavljanje odpornosti grizočih žuželk na insekticide. V laboratoriju smo pripravili vodne raztopine pripravkov tako, da smo v poskusu uporabili insekticide v desetih koncentracijah, od 0 % do 800 % priporočenega poljskega odmerka. 100 % koncentracija je bila enaka priporočenemu poljskemu odmerku pripravka (l/ha) v 400 l vodne raztopine. Priporočeni odmerek za insekticid dursban E-48 je bil 2,0 l/ha, za confidor SL 200 0,5 l/ha in za karate zeon 5 CS 0,13 l/ha. V pripravljene raztopine smo pomakali sveže nabrane krompirjeve liste, jih osušili na zraku in zložili v Petrijeve posode s premerom 14 cm. V vsako posodo smo dodali po 10 ličink koloradskega hrošča, v larvalni stopnji L1/L2. Po 48 urah smo ocenili njihovo smrtnost. Poskus je potekal v štirih ponovitvah. Iz podatkov o smrtnosti smo izračunali korigirano smrtnost žuželk po Abbottovi formuli in rezultate statistično obdelali s "Probit" analizo. Za preizkušane populacije koloradskega hrošča smo dobili funkcijsko krivuljo, ki predstavlja razmerje med koncentracijo insekticida in njegovo učinkovitostjo. Iz krivulje smo za vsako populacijo in preizkušani insekticid odčitali vrednosti LD₉₅ ter jih primerjali s priporočenimi odmerki (koncentracijami) insekticidov. Kadar je LD₉₅ enak priporočenemu poljskemu odmerku, lahko, gledano teoretično, izhaja, da majhen del preiskovane populacije hrošča preživi, da torej rezistenca obstaja.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

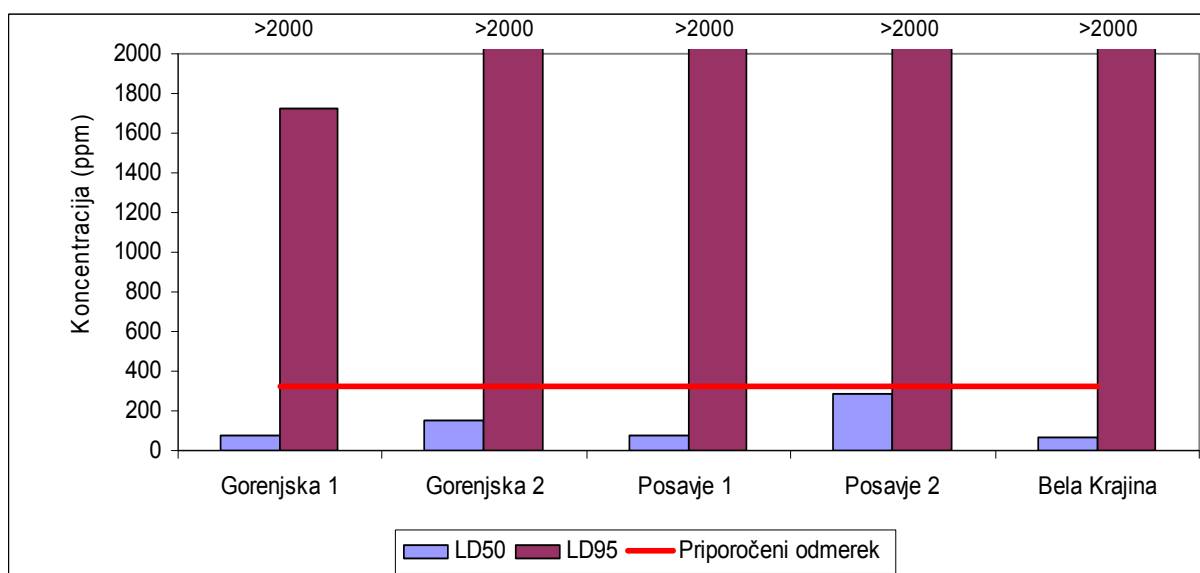
V poskusih z insekticidom klorpirifos iz skupine organskih fosforjevih estrov na mladih ličinkah koloradskega hrošča (larvalna stopnja L1/L2) so bile vrednosti LD₉₅ med populacijami različne. Pri hroščih z Gorenjske in Bele krajine so bile za faktor 0,2 do 0,8 nižje glede na priporočeni poljski odmerek. Pri populacijah z Dolenjske in Posavja pa so bile

vrednosti LD₉₅ za 1,8 do 2,5 krat višje od priporočenih koncentracij (slika 1), kar pomeni, da lahko govorimo o rezistenci.



Slika 1: Prikaz vrednosti LD₅₀ in LD₉₅ za insekticid klorpirifos po lokacijah (ličinke L1/L2)
Figure 1: Values LD₅₀ and LD₉₅ for insecticide chlorpirifos in different locations (larvae L1/L2)

Za razliko od klorpirifosa, ki je pri nekaterih populacijah še nudil zadovoljivo učinkovitost, smo za lambda-cihalotrin na vseh preizkušanih populacijah ugotovili slabo delovanje na mlade ličinke. Vrednosti LD₉₅ so bile od priporočene koncentracije (320 ppm) višje za 5,4 do 12,5 krat, kar kaže na visoko stopnjo odpornosti hrošča na ta insekticid.



Slika 2: Prikaz vrednosti LD₅₀ in LD₉₅ za insekticid lambdacihalotrin po lokacijah (ličinke L1/L2)
Figure 2: Values LD₅₀ and LD₉₅ for insecticide lambda-cyhalothrin in different locations (larvae L1/L2)

Odpornosti na insekticid imidakloprid iz skupine neonikotinooidov nismo ugotovili nikjer. Insekticid je pri vseh poskusnih populacijah pokazal odlično delovanje na ličinke koloradskega hrošča, tudi pri najnižji uporabljeni koncentraciji, ki je bila 16 % od

priporočene. Zaradi tako velike smrtnosti žuželk rezultatov nismo mogli statistično analizirati in izračunati vrednosti LD₅₀ in LD₉₅.

Taki rezultati so bili deloma pričakovani. Organske fosforjeve insekticide so za zatiranje koloradskega hrošča pri nas uporabljali približno trideset let. Pred nekaj leti je bil klorpirifos zaradi toksikoloških lastnosti umaknjen iz prometa. Sintetični piretroidi so v uporabi od konca osemdesetih let prejšnjega stoletja in so še vedno pomembna skupina insekticidov. Proti koloradskemu hrošču je trenutno registriranih šest insekticidov iz te skupine od skupno dvanajstih pripravkov. V zadnjih letih so proti koloradskemu hrošču najbolj učinkoviti neonikotinski pripravki. Imidakloprid se sicer proti temu škodljivcu več ne uporablja, so pa trenutno pri nas registrirani trije pripravki iz te skupine. Zaradi odlične učinkovitosti jih pridelovalci krompirja zadnja leta tudi najpogosteje uporabljajo.

4 SKLEPI

Ugotovili smo, da obstajajo razlike v občutljivosti slovenskih populacij koloradskega hrošča na insekticide iz skupine organskih fosforjevih insekticidov, sintetičnih piretroidov in neonikotinooidov. Rezistenco na organski fosforjev insekticid klorpirifos smo dokazali pri večini analiziranih populacij, pri vseh populacijah smo ugotovili tudi visoko stopnjo rezistence na sintetični piretroid lambda-cihalotrin. Učinkovitost neonikotinskega pripravka imidakloprid pa je bila odlična na vseh lokacijah. Kljub trenutno dobri učinkovitosti neonikotinskih pripravkov pa je razvoj rezistence sčasoma neizbežen saj je posledica stalnega selekcijskega procesa, zato si je treba prizadevati za čimbolj dolgo »zadrževanje« pojava rezistence. Odlična učinkovitost neonikotinskih insekticidov ne sme zavesti pridelovalcev k enostranski uporabi omenjenih sredstev. Eden od poglobitnih ukrepov za preprečevanje (zadrževanje) pojavov odpornosti je izmenična raba insekticidov iz različnih skupin oz. z različnimi mehanizmi delovanja (Wyman 2003) in zatiranje škodljivcev v mladih razvojnih stadijih, ko so le ti najbolj občutljivi na insekticide.

5 ZAHVALA

Rezultati, predstavljeni v tem prispevku, so nastali na pobudo dr. Ericha Jörga, nekdanjega direktorja inštitucije ZEPP iz kraja Bad Kreuznach (Nemčija). Posebna zahvala gre tudi njegovim kolegom (dr. Benno Kleinhenz, Kristina Falke, Barbara Kiel, Uwe Preiß), ki so nam med bivanjem v Nemčiji namenili veliko njihovega službenega in zasebnega časa. Finančno pokritje raziskave je bilo zagotovljeno s strani projekta CRP V4-0328 in programa Hortikultura P4-0013.

6 LITERATURA

- Abbott, W.S. 1925 A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18: 265-267.
- Dolničar, P., Pajmon A. 1998. Odpornost koloradskega hrošča na insekticide, Zbornik referatov, Novi izzivi v poljedelstvu: 225-229.
- Forgash, A. J. 1985. Insecticide resistance in the Colorado potato beetle. *In* D. N. Ferro and R. H. Voss [eds], *Proceedings of the Symposium on the Colorado Potato Beetle, 17th International Congress of Entomology*. Massachusetts Experiment Station, University of Massachusetts, Amherst, MA: 33-35
- Forgash, A.J. 1984. History, evolution and consequences of insecticide resistance. *Pestic. Biochem. Physiol.* 22:178-186
- French, N.M. II., D.C. Heim & G.G. Kennedy. 1992. Insecticide resistance patterns among Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae), populations in North Carolina. *Pestic. Sci.* 36: 95-100
- Hare, DJ. 1990. Ecology and management of the Colorado potato beetle. *Annual Rev Entomol* 35: 81-100

- Hrzič, A., Masten, V., Šišakovič, V. 1967. Primena preparata OHIS-a kod suzbijanja krompirove zlatice u područjima Slovenije gde je registrovana pojava odpornosti ove štetočine na lindanske preparate. Poročilo o delu, Kmetijski inštitut Slovenije
- Jörg E. 1998. Colorado Potato Beetle Control – Loss of Insecticide Efficacy. Kartoffelbau 49: 172-174
- Jörg E., Wegorek P. 2003. Colorado Potato Beetle – insecticide resistance in Germany and Poland. Kartoffelbau 54: 235-237
- Maceljki, M. 1995. Rezistentnost koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) u Hrvatskoj. Zbornik predavanj in referatov z 2. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 21.-22. februar 2005: 47-59
- Maček J., Kač M. 1990. Kemična sredstva za varstvo rastlin. Kmečki glas, 491 s.
- Stanković S. *et al.* 2004. Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) resistance to organophosphates and carbamates in Serbia. Journal of Pest Science 77: 11-15
- Wyman, J. 2003. Managing Insecticide Resistance – The Future of Insect Control in Potatoes

ŠIROK SPEKTER GOSTITELJSKIH RASTLIN SADNEGA LISTNEGA DUPLINARJA (*Leucoptera malifoliella* [O. Costa])

Domen BAJEC¹, Karmen RODIČ², Andreja PETERLIN³

^{1,2,3}KGZS – Zavod Novo mesto

IZVLEČEK

Sadni listni duplinar *Leucoptera malifoliella* [O. Costa] iz družine zankastih listnih zavrtačev (fam. Lyonetiidae) je polifagna vrsta gospodarskega škodljivca, ki ima v nasadih jabolane na območju JV Slovenije velik pomen. Gosenice pod povrhnjico lista koncentrično izjedajo tkivo v obliki rogov in s tem zmanjšujejo asimilacijsko površino. Ob močnem napadu lahko povzročijo prezgodnjo defoliacijo napadenih listov gostiteljske rastline. V širši regiji sta bili do nedavnega kot gostiteljski rastlini znani jabolana in hruška ter v manjši meri tudi češnja, kutina, glog, in breza. Zadnja leta so se znamenja napada na območju JV Slovenije začela pojavljati tudi na drugih rastlinah. V letih 2007 in 2008 smo opravili vzorčenje različnih vrst gostiteljskih rastlin in napade dokumentirali. Poškodbe in mesta napadov smo pregledali in prvo določanje povzročiteljev napadov opravili v stadiju gosenice. Zaradi lažjega določanja taksonomske pripadnosti smo na delih napadenih rastlin v inšektariju vzgajali povzročitelje napadov do stadija odraslega osebka. Ugotovljeno je bilo, da vrsta *Leucoptera malifoliella* [O. Costa] na območju JV Slovenije poleg jabolane napada tudi hruško (pojav bolj množičnih napadov v letu 2007), breskev, marelico, češnjo, višnjo, azijsko hruško ter paradižnik. Pri določanju povzročiteljev izvrtin so obstajale možne zamenjave z drugimi listnimi zavrtači, oz. okužbo z glivo *Alternaria sp.* na napadenem paradižniku.

Ključne besede: gostiteljske rastline, listni zavrtači, sadni listni duplinar

ABSTRACT

WIDE RANGE OF HOST PLANTS OF PEAR LEAF BLISTER MOTH (*Leucoptera malifoliella* [O. Costa])

Pear leaf blister moth *Leucoptera malifoliella* [O. Costa] from the Lyonetiidae family is a polyphagous pest species of great economic importance in apple orchards in SE Slovenia. Larvae mine leaf tissue under epidermis in concentric shape and reduce assimilation area. Under heavy attack, host plant can prematurely defoliate by dropping infested leaves. In the wider region were until recently known host plants apple and pear, with cherry, quince, hawthorn and birch in minor part. In recent years, the symptoms of infestation were appearing in SE Slovenia also on other plant species. In 2007 and 2008 different host plants were sampled and documented. Mines and localities of attack were inspected and first identification of pests was performed in the larva stage. Due to easier identification of taxonomic status, creators of the mines were bred in insectarium on parts of host plants until the adult stage. It was confirmed that besides apple, species *Leucoptera malifoliella* [O. Costa] attacks in SE Slovenia also pear (major infestation in 2007), peach, apricot, cherry, sour cherry, nashi and tomato. When identifying creator of the mines, there were possible replacements to be made with other leaf miners or infection with fungus *Alternaria sp.* on attacked tomato.

¹ univ. dipl. ing. agr., Šmihelska c. 14, SI-8000 Novo mesto; e-mail: domen.bajec@gov.si

² univ. dipl. ing. agr., prav tam

³ dipl. ing. agr. in hort., prav tam

Key words: host range, leaf miners, pear leaf blister moth

1 UVOD

Sadni listni duplinar *Leucoptera malifoliella* [O. Costa] je uvrščen v družino zankastih listnih zavrtičev (fam. Lyonetiidae). Napada večje število gostiteljskih rastlin in je kot polifagna vrsta v sadnih nasadih na območju JV Slovenije velikega pomena, saj lahko povzroča veliko gospodarsko škodo. Gosenice pod povrhnjico lista koncentrično izjedajo tkivo v obliki rogov in s tem zmanjšujejo asimilacijsko površino. Ob močnem napadu lahko povzročijo prezgodnjo defoliacijo napadenih listov gostiteljske rastline. V širši regiji sta bili do nedavnega kot gostiteljski rastlini znani jablana in hruška ter v manjši meri tudi češnja, kutina, glog, in breza. Zadnja leta so se znamenja napada na območju JV Slovenije začela pojavljati tudi na drugih rastlinah.

2 MATERIAL IN METODE

V letih 2007 in 2008 smo opravili vzorčenje različnih vrst gostiteljskih rastlin in napade dokumentirali. Poškodbe in mesta napadov smo pregledali in prvo določanje povzročiteljev napadov opravili v stadiju gosenice.

Zaradi lažjega določanja in potrjevanja taksonomske pripadnosti smo na delih napadenih rastlin v insektariju vzgajali povzročitelje napadov do stadija odraslega osebka. Vzorčene dele napadenih rastlin smo gojili na gobi za aranžiranje svežega cvetja (Smithers-Oasis). Za omejitev gibanja gosenic pred zabubljanjem smo uporabili izredno tanke ($m=2,35$ g) prosojne PVC vrečke ($V=20$ l), s katerimi smo prekrili in izolirali posamezne vzorce. Razvoj gosenic je potekal pri temperaturi prostora 22-25°C.

Povzročitelje poškodb na gostiteljskih rastlinah smo določili po morfoloških metodah.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Vsi odvzeti vzorci v obravnavi so bili v obliki napadenih delov rastlin. Obravnavali smo vzorce jablane (določanje drugih vrst listnih zavrtičev), hruške, breskve, marelice, češnje, višnje, azijske hruške in paradižnika.

Preglednica 1: Rezultati spremljanja razvoja sadnega listnega duplinarja na gostiteljski rastlini.

Table 1: Results of monitoring Pear leaf blister moth development on host plant.

Gostiteljska rastlina s potrjeno prisotnostjo sadnega listnega duplinarja (stadij gosenice)	Uspešno zaključen razvoj		Opombe:
	v naravi	v laboratoriju	
jablana (<i>Malus</i> sp. L.)	da	/	Vzorec v laboratoriju ni bil obravnavan.
hruška (<i>Pyrus communis</i> L.)	da	da	
breskev (<i>Prunus persica</i> Batsch)	da	da	
marelica (<i>Prunus armeniaca</i> L.)	da	/	Vzorec v laboratoriju ni bil obravnavan.
češnja (<i>Prunus avium</i> L.)	da	da	
višnja (<i>Prunus cerasus</i> L.)	da	ne	
azijska hruška (<i>Pyrus pyrifolia</i> (Burm.f.) Nakai)	da	/	Vzorec v laboratoriju ni bil obravnavan.
paradižnik (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	da	ne	

Pri določanju povzročiteljev izvrtin na sadnem drevju so obstajale možne zamenjave z drugimi listnimi zavrtači iz skupin Lyonetiidae (Lep.), Nepticulidae (Lep.), Gracillariidae (Lep.), Bucculatricidae (Lep.),...

Na napadenem paradižniku je obstajala možnost zamenjave z okužbo z glivo *Alternaria spp.*, ki je bila ovržena že pri pregledu na lokaciji napada. V laboratoriju je bil naknadno še dodatno potrjen napad s sadnim listnim duplinarjem, katerega vzorčeni osebki pa niso sklenili razvoja kot odrasli osebki. Možen vzrok je v manj ustreznih razmerah za gojenje (zelnate) gostiteljske rastline, ki je doživljala prehitro izgubo vode. Napadeni nasad paradižnika se ne nahaja v bližini drugih znanih gostiteljskih rastlin, kar izključuje infestacijo paradižnika kot le posledico prostorske migracije.



Slika 1: Vzgoja povzročiteljev izvrtin na gostiteljskih rastlinah v laboratoriju.
Figure 1: Rearing of mine creators in the laboratory.



Slika 2: Napad sadnega listnega duplinarja (*Leucoptera malifoliella* O. Costa) na: češnji (a); hruški (b); marelici (c) in paradižniku (d).

Figure 2: Attack of Pear leaf blister moth (*Leucoptera malifoliella* O. Costa) on: cherry (a); pear (b); apricot (c) and tomato (d).

4 SKLEPI

Ugotovljeno je bilo, da vrsta *Leucoptera malifoliella* [O. Costa] na območju JV Slovenije poleg jablane napada tudi hruško (pojav bolj množičnih napadov v letu 2007), breskev, marelico, češnjo, višnjo, azijsko hruško ter paradižnik. Dosedanja opazovanja so potrdila le en napad sadnega listnega duplinarja na paradižniku, zaradi česar še ne moremo sklepati, da predstavlja resnično nevarnost večjim pridelovalnim površinam na JV Slovenije.

5 LITERATURA

- Alford D.V. 1984. Colour Atlas of Fruit Pests: Their Recognition, Biology and Control. London. A Wolfe Science Book Ltd.:123-124.
- Biological Records Centre, Database of Insects and their Food Plants, 2009; <http://www.brc.ac.uk/DBIF/invertebratesresults.aspx?insectid=4770> (15.01.2009)
- British Leafminers, 2009; http://www.leafmines.co.uk/html/Mine_Guide.htm (15.01.2009)
- Fauna Europaea, 2007; http://www.faunaeur.org/full_results.php?id=287393 (15.01.2009)
- Informacijski sistem za varstvo rastlin, Fito-info, 2009; <http://www.fito-info.bf.uni-lj.si/cirsium/FITOINFO/SifrantOrg.htm> (15.01.2009)
- National History Museum, 2009; <http://www.nhm.ac.uk/research-curation/research/projects/british-insect-mines/database/Parasitoid.do?pg=para&flyId=1288> (15.01.2009)

The Swedish Museum of Natural History, Svenska fjärilar, 2009;
http://www2.nrm.se/en/svenska_fjarilar/svenska_fjarilar.html#Leucoptera (15.01.2009)
Seven S. 2006. Lyonetiidae of Turkey with notes on their distribution and zoogeography (Lepidoptera).
Magnolia Press, *Zootaxa* 1245: 53–58.

VAROVANJE KMETIJSKIH ZEMLJIŠČ PRED ŠKODO PO PARKLJASTI DIVJADI Z ELEKTROOGRAJAMI

Matej VIDRIH¹, Žiga LAZNIK², Stanislav TRDAN³

^{1,2,3} Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko
tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

Uporaba elektroograj za potrebe nadzorovane paše domačih živali je že dolgo znan kot poceni in učinkovit pripomoček za kmetovanje na travnatem svetu. V Sloveniji je premalo izkoriščena možnost njene uporabe za oviranje dostopa divjadi ter velikim zverem na kmetijska zemljišča in preprečevanje škod na gojenih rastlinah in na rejnih živalih. Ker je vse več prijav škodnih primerov tako na posevkih s kmetijskimi rastlinami (koruza, vrtnine, travinje), kot tudi napadov na domače živali (ovce, koze, osli), bo treba poiskati rešitev v učinkovitejšem varovanju z elektroograjami. Zaradi specifičnosti slovenskega prostora (velik delež gozda, območja s težjimi razmerami za kmetovanje, večanje številčnosti divjadi), ki pogojuje težjo pridelavo hrane in krme za domače živali, je nujna uporaba tehničnih sredstev kot so različne vrste elektroograj za varovanje zemljišč. Posebnost te vrste tehničnih sredstev pri odvrčanju divjadi in posledično preprečevanja škode na kmetijskih rastlinah je v tem, da delujejo kot psihološka ovira. Čeprav se jih pri varovanju gojenih rastlin na kmetijskih zemljiščih zaradi očitkov, da so le-te drage in prezahtevne za vzdrževanje, premalo uporablja, menimo, da sta očitka neupravičena. V prispevku bodo predstavljene osnovne zahteve, ki morajo biti izpolnjene za učinkovito delovanje katerekoli vrste elektroograj. Poleg tega bodo predstavljene tudi zahteve pri ograjevanju za namene odvrčanja divjadi od kmetijskih zemljišč, kjer uspevajo gojene rastline. Osnovna zahteva pri učinkoviti elektroograji za potrebe varovanja posevkov poljščin je ta, da mora biti prilagojena vrsti živali, ki ji želimo preprečiti dostop na zemljišče. Poleg tega mora biti ustrezna za premeščanje in hitro postavitvev na območju, kjer se bo pokazala potreba po varovanju poljščin in njena postavitvev naj bi bila čim manj moteča za druge uporabnike prostora.

Ključne besede: elektroograj, kmetijske kulture, ograjevanje, parkljasta divjad, psihološka ovira

ABSTRACT

PROTECTION OF AGRICULTURAL LAND FROM BIG GAME DAMAGE WITH ELECTRIC FENCES

The use of electric fences for the necessity of controlled grazing of domestic animals is well known as an inexpensive and effective way of grassland farming. In Slovenia, the possibility of their use in hindering access to big game and large carnivores to agricultural land with the aim of preventing the damage to cultivated plants and livestock is not enough exploited. Because more and more damage on crops such as maize, vegetable and grass sward as also attacks on domestic animals (sheep, goats, donkeys) is reported, it is urgent to seek for solution in effective protection with electric fencing. Due to specificity of Slovenian territory

¹ asist., dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ izr. prof., dr., prav tam

(large portion of forests, less favoured areas, increase in wildlife population) which dictates harder conditions in food and feed production for livestock, it is necessarily to employ technical means as different designs of electric fence are. Special characteristic of this form of technical means when trying to divert big game and consequently prevent damage on agricultural plants, is that it acts as a psychological barrier. Although in protecting crops on agricultural land this means is used very too scarce due to recriminations that it is too expensive to erect and exacting for maintenance as well, we believe these two recriminations are inexcusable. In a paper basic requirements which have to be fulfilled for adequate functioning of any kind of electric fence will be presented. Furthermore requirements in fencing for the purpose to exclude big game from agricultural land on which plants are cultivated will be laid out. Principal demand when looking for effectiveness of electric fence in controlling field crops is its adaptiveness to the animal for which we want to inhibit the entrance to the land. Beside previous it has to be convenient for relocation and fast set up in the area, where the need for protection of crops is. And the last but not the least important, its presence should be as less obstructed as possible for other beneficiaries of the countryside.

Keyword: electric fence, agricultural crops, fencing, big game, psychological barrier

1 UVOD

Varovanje posevkov na kmetijskih zemljiščih in mladih nasadov dreves pred divjimi prašiči in ostalimi prostoživečimi prežvekovalci z elektroograjami, ki jih uporabljamo za ograjevanje in razdelitev pašnikov v Sloveniji je mogoče, vendar ni vedno dovolj učinkovito. Ta učinkovitost je v današnjem času, ko je trend številnosti in premeščanja teh živali v prostoru zelo v porastu, še toliko bolj na udaru, saj je marsikje po Sloveniji populacija določene vrste parkljaste divjadi zelo porasla (Jerina, 2006). S tem pa tudi pritisk na kmetijska zemljišča oziroma rastline, ki jih kmetje na njih gojijo. Domače rejne živali so na pašniku v vsakodnevem stiku z elektroograjami, jo poznajo in vedo, kje je. Še posebno to velja za plemenske živali, saj te ostajajo na kmetiji dalj časa. Prav tako se pasejo skupaj največkrat živali ene vrste (govedo, ovce, koze) ali ena kategorija domačih živali (krave dojilje, biki pitanci, jagneta) (Vidrih, 1999).

Ukrepi, ki zmanjšuje pojavnost škode na kmetijskih zemljiščih po divjem prašiču in ostali parkljasti divjadi so raznovrstni in jih tako kmetje kot lovci poznajo, predvsem slednji jih imajo na voljo kar nekaj (Černe, 2004). Kdaj uporabiti katere ukrepe je vedno stvar dogovora oziroma smernic, ki jih želimo z neko aktivnostjo v kulturni krajini zasledovati. Tudi ukrep kot je uporaba elektroograj kot oblike varovalnega sredstva pred vdorom divjega prašiča oziroma drugih prostoživečih živali na zemljišča, kjer se prideluje večinoma krma za vhljane živali, v manjšem obsegu pa tudi hrana za ljudi, je še premalo raziskana in vpeljana v prakso in tako prehitro označena kot neuporabna oblika varovanja kmetijskih zemljišč pred divjadjo. Upravljalce divjadi v našem prostoru prevečkrat zanimajo tako iz strokovnega kot znanstvenega vidika samo populacijski in habitatni dejavniki neke divjadi in kako te živali spremljati v prostoru in času z različnimi tehnikami sledenja (telemetrija, ušesno markiranje) ter ugotavljati prehransko priljubljenost beljakovinsko-vitaminskih dodatkov (Pokorny *et al.*, 2009). Škodo, po divjadi, ki je v zimskem obdobju 2008/2009 nastala na kmetijskih zemljiščih je potrebno preprečevati še na druge načine in v nadaljevanju bodo predstavljene zahteve za postavitve ter uporabo učinkovitih elektroograj.

2 ZNAČILNOSTI ELEKTROOGRAJE

Elektroograjami poznajo kmetovalci, ki se ukvarjajo z pašno rejo živali po svetu že več kot 80 let, pri nas pa se srečujejo z njo zadnjih 35 let (Vidrih, T. in Vidrih, M., 1999). Značilnost te

vrste ovire, ki preprečuje pobeg ali vdor živali na zemljišče, ki je ograjeno, je v tem, da to ni fizična temveč psihološka ovira. Druga pomembna lastnost je, da če ta vrsta ovire deluje učinkovito, da predstavlja v možganih živali trajno zapisan spomin na bolečino ob srečanju z elektroograjom. Katerakoli vrsta elektroograje je v svoji osnovni funkciji učinkovita samo tedaj, ko so za njeno delovanje izpolnjene določene zahteve in sicer, da je v žicah tok električne energije, da žice niso v kratkem stiku in da je narejena ustrezna ozemljitev za pašni aparat (Hancock, 1995). Tok električne energije prihaja v žice elektroograje iz pašnega aparata. Pašni aparat je srce elektroograje in ta pošilja v določenih časovnih razmikih pulze električne energije v žice ali plastične trakove, v katerih so vpletene tanke žice. Ko se žival dotakne žic elektroograje, ki so tudi pod napetostjo, se sklone krogotok preko ozemljitve pašnega aparata in takrat žival stresa. Dobro ozemljitev pašnega aparata predstavljajo tri ali štiri pocinkane železne palice, ki so zabite v zemljo. Če je elektroograj v kratkem stiku zaradi travne ruše, ki se dotika spodnje žice ali slabo narejene ozemljitve pašnega aparata, le ta žival ne stresa dovolj. Problem nezadostne učinkovitosti delovanja elektroograje se lahko pojavi tudi takrat, kadar je v tleh premalo vlage in ta slabo prevajajo elektriko. Tedaj je potrebno izboljšati ozemljitev pašnega aparata tako, da povečamo število palic na katere je priključen ozemljitveni terminal pašnega aparata.

Zakon o graditvi objektov (Zakon o..., 2002) v 8. členu razvršča objekte glede na zahtevnost gradnje in vzdrževanja na zahtevne, manj zahtevne in enostavne objekte. Kasneje sprejeti Pravilnik o vrstah zahtevnih, manj zahtevnih in enostavnih objektov, o pogojih za gradnjo enostavnih objektov brez gradbenega dovoljenja in o vrstah del, ki so v zvezi z objekti in pripadajočimi zemljišči (Pravilnik o..., 2003) v svojem 4. členu uvršča ograje, ki so namenjene paši domačih živali med enostavne objekte oziroma znotraj le- teh na pomožne objekte. Med pomožne objekte poleg ograj sodijo še objekti za lastne potrebe, pomožni infrastrukturni objekti in pomožni kmetijsko-gozdarski objekti. V letu 2004 popravljeni Pravilnik (Pravilnik o..., 2004) v 3. členu in 5. točki govori o ograji kot tisti, ki je namenjena paši živine, ki je montažna, navadno lesena ograja ali ograja, narejena kot električni pastir, in če je njena višina do 1,2 m.

3 VRSTE ELEKTROOGRAJ

Za potrebe pašne reje domačih živali uporabljamo dve skupini elektroograj in sicer odvisno od dela zemljišča, ki ga ograjujemo ali okoliških razmer. Stalne elektroograje postavljamo po obodu zemljiščih, ki so večjega obsega ter se nahajajo bodisi na krasu ali v hribovitem svetu in se bo žival tam stalno pasla. Material za stalno elektroograjso so leseni koli iz trdega lesa, dobro pocinkana žica, ki je ustrezne debeline in trpežni nosilni ter napenjalni izolatorji. Druga skupina ograj sočasne elektroograje. Te uporabljamo kot delilne ograje in z njimi lahko razdelimo pašnik na večje število manjših enot, ki jim rečemo ograde. Uporabljamo jih tudi kadar želimo z njimi za krajši čas leta zagraditi del zemljišča, da tam živali pasemo (manjša parcela v množici večjega števila parcel) ali pa jim do tja preprečimo pristop (poškodovana mesta na pašniku). Začasno elektroograjso predstavljajo plastični količki različnih višin, elektrotrak ali elektrovrstica ter navojna vretena. Posebna vrsta začasne elektroograje je tudi elektromreža. To je plastična mreža višine od 90 do 120 cm, ki ima v vodoravne linije vpletene pocinkane žičke. Da nam žival ne pobegne s pašnika je poleg tega, da ograja trese pomembno tudi, da so žice po višini ustrezno razporejene oziroma da je ograja ustrezne višine. Velja pravilo, da so spodnje žice vedno bolj skupaj, saj se žival pase s sklonjeno glavo in je verjetnost srečanja z oviro toliko večja.

4 ELEKTROOGRAJA IN PARKLJASTA DIVJAD

Tako kot za domače velja tudi za divje živali; z elektroograjjo se morajo seznaniti na miren način in prvo srečanje (dotik) z elektroograjjo jim mora ostati v spominu kot zelo neprijeten dogodek. Zaradi tega je treba že pri postavljanju ograje na predelih, kjer divjad hodi na pašo, napajanje ali samo prečka zemljišče, obvezno vsak dan priključiti na pašni aparat nov del ograje, tako da bodo imele živali že prvo noč možnost, da spoznajo kako neprijeten je dotik z novo oviro na njihovi običajni poti. Poiskale si bodo druge pašnike ali napajališča in manj boleče poti do njih. Za divjad je še pomembnejša dobra opaznost ograje, saj hodi na pašo ponoči. Zaradi tega moramo preveriti ponoči ali v zgodnjih jutranjih urah, če je v žicah elektroograje pulz dovolj močan, kljub številnim kratkim stikom zaradi rose na rastlinah in izolatorjih. Divje prežvekovalce lahko privabimo k ograji, da jo bodo s smrčkom v miru raziskali tako, da na žico elektroograje privežemo plitve pločevinke v katere nasujemo sol ali mineralni dodatek za govedo.

Seveda pa elektroograjja ni vedno dovolj učinkovita, da bi zadržala vdor divjadi na kmetijsko zemljišče, ki ga varujemo. Razlogov je več in najbolj enostaven je ta, da se je v zadnjih letih izbrana vrsta divjadi enostavno preveč razmnožila in jih tudi dobro postavljene elektroograje težko zadržijo nazaj. Na pašniku dobijo rejne živali tako krmo kot tudi vodo in sol, zato ni nobenih potreb, da bi te živali pobegnile s pašnika. Divje živali pridejo do nje samo občasno in jo poskusijo obvladati kot vsako drugo oviro v naravi; srnjad in jelenjad preko in divji prašič izpod nje. Parkljasta divjad je običajno aktivna ponoči ali ko se dani in zato slabo postavljene elektroograje težje opazi. Prav tako imajo lahko te živali ustaljene poti po katerih se premikajo iz ene na drugo lokacijo. Slabša učinkovitost že postavljenih elektroograj, ki varujejo izbrana zemljišča je tudi zaradi izbranega pašnega aparata, ki je običajno majhne moči in zato slabše strese živali, ki se dotaknejo žice, ki so napajane s takim pašnim aparatom. Za varovanje pridelkov na njivah in travnikih pred vdorom divjega prašiča in drugih vrst divjadi so se kot zelo učinkovite izkazale začasne elektroograje (preglednica 1) (VerCauteren *et al.*, 2006). To vrsto elektroograj lahko predstavlja sistem plastičnih količkov in elektrotrakov ali elektrovrvic ali pa elektromreža. Seveda je potrebno pri slednji še dosledneje upoštevati zahteve kot sta, da mreža vedno strese in da je fizično dobro napeta.

Preglednica 1: Oblike začasne elektroograje za varovanje kmetijskih zemljišč pred divjadjo
Table 1: Designs of temporary electric fence for protecting agricultural land from big game

Vrsta divjadi	Oblike začasne elektroograje
Divji prašič	- osnovna postavitvev s plastičnimi količki, elektrotrakom, elektrovrnico, in navojnim vretenom - izboljšana postavitvev z distančniki v obliki številke 7. Ograja dobi tretjo dimenzijo. - elektromreža
Srnjad, jelenjad	- osnovna postavitvev s plastičnimi količki, elektrotrakom, elektrovrnico in navojnim vretenom - izboljšana postavitvev z dvema vzporednima linijama v razmiku 1 m

Med parkljasto divjadjo seveda obstajajo razlike glede načina, kako le te poskušajo prečkati postavljeno oviro, ki jim zapira pot do kmetijskih zemljišč. Višje postavljene žice v elektroograjji naj bodo predvsem tam, kjer obstaja nevarnost vdora srnjadi in jelenjadi na kmetijsko zemljišče (preglednica 2).

Preglednica 2: Višina elektroograje, število žic in razmik med njimi za odvrčanje različnih vrst divjadi
 Table 2: Fence height, number of wires and distance between them for deterring different big game species

Vrsta divjadi	Višina ograje (cm)	Število žic	Razmik med žicami (cm)
Divji prašič	75	3	20 / 25 / 30
Srnjad	140	5	30 / 15 / 30 / 30 / 35
Jelenjad	150	5	30 / 30 / 30 / 30 / 30
Jelenjad	150	8	15 / 15 / 15 / 15 / 15 / 25 / 25 / 25

Med vsemi vrstami ograj oziroma tehničnih sredstev, ki preprečujejo vdor divjadi na kmetijska zemljišča predstavljajo pravilno postavljene in uporabljene elektroograje lahko tudi najprijaznejši način odvrčanja divjadi (Paige, 2008; Vidrih *et al.*, 2008), saj imajo predvsem lovci že veliko slabih izkušenj z masivnimi vrstami ograj (bodeča žica, mrežasto pletivo), kadar se v njih zaplete divjad. S kakšno ograjo lahko preprečimo prehod (pobeg) tem živalim, si je mogoče najlažje ogledati v živalskih vrtovih. Pa še tam zavračajo z določeno vrsto ograje naenkrat samo pobeg eni živalski vrsti. V primeru varovanja kmetijskih zemljišč pri nas naj bi učinkovita elektroograj preprečevala dostop srnjadi in jelenjadi na njivo ali vrt, pa tudi medved in jazbec ter divji prašič niso zaželeni v dozorevajoči koruzi ali žitu. Slednji ne tudi na travinju, kjer lahko dela škodo že z ritjem travne ruše.

5 SKLEPI

Da bo elektroograj učinkovita pri odvrčanju divjadi od kmetijskih zemljišč mora izpolnjevati naslednje zahteve:

- biti mora prilagojena vrsti živali, ki ji želimo preprečiti vdor na kmetijsko zemljišče, kjer pridelujemo krmo ali hrano. To pomeni, da mora biti elektroograj ustrezno visoka in v njej zadostno število žic. Še posebno spodnje žice morajo biti dovolj na gosto, saj živali poskusijo priti skozi njo in ne preko nje;
- elektroograj mora biti opazna za živali. Elektrotrak ali pocinkana žica debeline 2,5 mm sta ustrezna vodnika, ki ju živali lahko opazijo. Rastje v pasu neposredno pod elektroograj mora biti nizko, da bo ograja bolj opazna (vidna), da rastline niso v dotiku z žicami elektroograje in da je zagotovljena dobra prevodnost med ograjo in zemljo, ko pride do dotika;
- elektroograj mora biti napajana z dovolj velikimi impulzi električne energije, ki živali ob dotiku pustijo trajen in boleč spomin na srečanje s tako oviro. Elektroograj mora tresti ob vsakem vremenu in če ne, je to slabo za njeno učinkovitost. Poskrbeti je tudi treba, da ima pašni aparat narejeno ustrezno ozemljitev glede na njegovo moč;
- za elektroograj, ki jo uporabljamo za varovanje kmetijskih zemljišč pred divjadjo mora veljati da je hitro in enostavno pospravljiva, prestavljiva in postavljiva. Pri tem pa ne smemo zanemariti osnovnih zahtev za delovanje elektroograje;
- njena postavitev naj bi bila čim manj moteča za ostale uporabnike prostora.

6 LITERATURA

- Černe, L. 2004. Preprečevanje in ocenjevanje škod od divjadi na kmetijskih rastlinah. Ljubljana, Lovska zveza Slovenije: 174 str.
- Hancock, T. 1995. Energizers and energy. An explanation of electric fence concepts. Hamilton, Gallagher Group Limited: 23 str.
- Jerina, K. 2006. Vplivi okoljskih dejavnikov na prostorsko razporeditev divjega prašiča (*Sus scrofa* L.) v Sloveniji. Zbornik gozdarstva in lesarstva, 81: 3-20.
- Paige, C. 2008. A landowner's guide to wildlife friendly fences. Montana, Landowner/Wildlife Resource Program, Montana Fish, Wildlife and Parks: 44 str.

- Pokorny, B., Jelenko, I., Poličnik H., Jerina, K. 2009. Divji prašič in škoda v kmetijski krajini. *Lovec*, 92, 4: 180-183.
- Pravilnik o vrstah zahtevnih, manj zahtevnih in enostavnih objektov, o pogojih za gradnjo enostavnih objektov brez gradbenega dovoljenja in o vrstah del, ki so v zvezi z objekti in pripadajočimi zemljišči. 2003. Ur. l. RS št. 114/2003.
- Pravilnik o spremembah in dopolnitvah pravilnika o vrstah zahtevnih, manj zahtevnih in enostavnih objektov, o pogojih za gradnjo enostavnih objektov brez gradbenega dovoljenja in o vrstah del, ki so v zvezi z objekti in pripadajočimi zemljišči. 2004. Ur. l. RS št. 130/2004.
- VerCauteren, K.C., Lavelle, M.J., Hygnstrom, S. 2006. Fences and deer-damage management: a review of designs and efficacy. *Wildl. Soc. Bull.* 34: 191-200.
- Vidrih, M. 1999. Domače živali naj se pasejo. *Kmečki glas*, 56: 9-10.
- Vidrih, T., Vidrih M. 1999. Elektroograje. Postavitev in vzdrževanje. *Kmetovalčev priročnik, Slovenj Gradec, Kmetijska založba*: 62 str.
- Vidrih, M., Benec, U., Trdan, S. 2008. Evaluation of different designs of temporary electric fence systems for the protection of maize against wild boar (*Sus scrofa* L., Mammalia, Suidae). *Acta agriculturae Slovenica*, 91, 2: 343-349.
- Zakon o graditvi objektov /ZGO-1/. 2002 Ur. l. RS, št. 11/2002.

PREUČEVANJE FUNGICIDNEGA DELOVANJA ŠTIRIH NARAVNIH SNOVI NA PARADIŽNIKOVO PLESEN (*Phytophthora infestans*) NA DVEH HIBRIDIH DETERMINANTNEGA PARADIŽNIKA

Katarina KOS¹, Helena ROJHT², Stanislav TRDAN³

^{1,2,3}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko
tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

V letu 2008 smo na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani izvedli poljski poskus, v katerem smo preizkušali delovanje štirih naravnih snovi in enega registriranega fungicida pri zatiranju paradižnikove plesni (*Phytophthora infestans*) na paradižniku. V poskusu smo uporabili dva hibrida paradižnika: Pik ripe F1 (Petoseed) in Sun chaser F1 (Petoseed). Naravne snovi, ki smo jih uporabili, so bile karvakrol, azaronaldehid, cimetova kislina in borneol. Med naravnimi snovmi ni bilo velike razlike pri okužbi paradižnika s paradižnikovo plesnijo in tudi število in masa plodov se med temi obravnavanji ni bistveno razlikovala. Hibrid S. chaser F1 se je pokazal za nekoliko bolj odpornega od hibrida P. ripe F1. Najmanj okužene so bile rastline paradižnika, ki smo jih škropili s priporočenim fungicidom Polyram DF, sledijo pa rastline škropljene s karvakrolom in azaronaldehidom, nato borneolom ter cimetovo kislino. Najbolj okužene so bile netretirane rastline.

Ključne besede: paradižnik, *Phytophthora infestans*, poljski poskus, učinkovitost, naravne snovi

ABSTRACT

RESEARCH ON FUNGICIDAL ACTIVITY OF FOUR NATURAL SUBSTANCES ON TOMATO LATE BLIGHT (*Phytophthora infestans*) ON TWO HYBRIDS OF DETERMINANT TOMATO

In 2008 the field experiment at the Experimental Field at the Biotechnical Faculty of Ljubljana was carried out to investigate the effect of four natural substances and one fungicide against tomato late blight (*Phytophthora infestans*) on two tomato hybrids: Pik ripe F1 (Petoseed) and Sun chaser F1 (Petoseed). As natural substances we used carvacrol, asaronaldehyde, cinnamic acid and borneol. Among treatments there was just a slight difference in effectiveness against tomato late blight infection, number and mass of tomato fruits. Hybrid S. chaser F1 was more resistant against pathogen than P. ripe F1. Less infected were plants treated with fungicide Polyram DF, then follows treatments with carvacrol and asaronaldehyde, borneol and cinnamic acid. Most infected was the control plants, where plants were not treated at all.

Ključne besede: tomato, *Phytophthora infestans*, field experiment, efficacy, natural substances

¹ asist., univ. dipl. inž. agr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana, e-mail: katarina.kos@bf.uni-lj.si

² asist., mag., prav tam

³ prof. dr., prav tam

1 UVOD

V Sloveniji smo v letu 2007 pridelali 4400 ton paradižnika na 144 ha (Statistični letopis RS, 2007), saj sodi paradižnik med pomembnejše zelenjadnice. Paradižnikova (krompirjeva) plesen spada med najpomembnejše glivične bolezni paradižnika in krompirja. Gliva lahko okužuje liste, stebila in plodove (Maček, 1991). Grmaste sorte paradižnika so bolj ogrožene kot sorte, ki jih gojimo na oporah, zaradi visoke vlage, ki se dalj časa zadržuje na rastlinah. Različne sorte paradižnika so različno odporne proti tej bolezni, popolnoma odpornih pa še ni. Za zatiranje te bolezni uporabljamo fungicide, za katera pa skušamo najti alternativne naravne snovi, ki bi učinkovito zavarovale rastline pred okužbo s to glivo, oziroma bi ji preprečile širjenje.

2 MATERIAL IN METODE DE LA

Poljski poskus je bil izveden leta 2008 na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani. Poskus je bil zastavljen v 3 blokih s po 6 obravnavanji, ki so zajemala:

1. kontrolo brez škropljenja;
2. škropljenje s priporočenim fungicidom Polyram DF (1,5 g/1 l);
in škropljenje z naravnimi snovmi:
3. karvakrol (0,1 % koncentracija);
4. azaronealdehid (2,4,5-trimethoxybenzaldehyde; 0,1 % koncentracija);
5. cimetova kislina (0,1 % koncentracija) in
6. borneol (0,1 % koncentracija).

I. KONTROLA FUNGICID POLYRAM DF	H1	I.	VI.	II.
	H2			
II. KONTROLA NETRETIRANO	H1	II.	V.	I.
	H2			
III. KARVAKROL	H1	III.	IV.	VI.
	H2			
IV. AZARONALDEHID 2,4,5,-trimethoxybenzaldehyde	H1	IV.	III.	V.
	H2			
V. CIMETOVA KISLINA	H1	V.	II.	IV.
	H2			
VI. BORNEOL	H1	VI.	I.	III.
	H2			
		I. blok	II. blok	III. blok

Slika 1: Načrt poljskega poskusa.

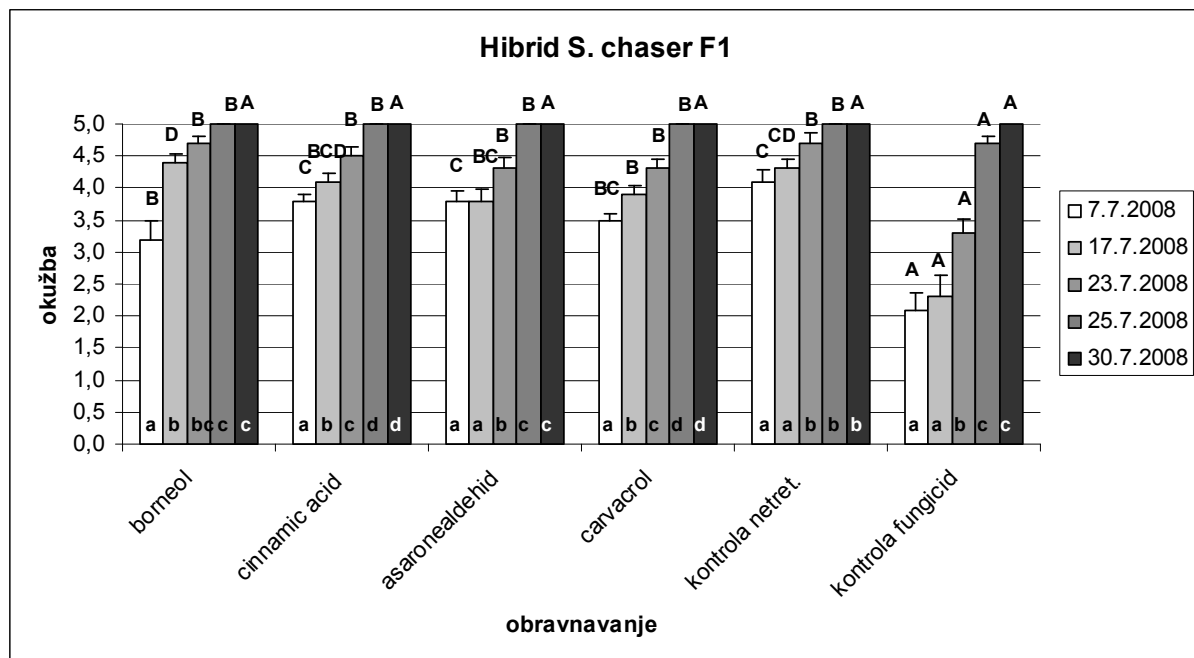
Azaronaldehid je naravna snov v rizomih kolmeža (*Acorus gramineus*) (Lee, 2007), karvakrol in borneol pa sta snovi v šetrajju (*Satureja* sp.), rožmarinu (*Rosmarinus officinalis*), navadnem komarčku (*Foeniculum vulgare*) in vrsti origana (*Origanum syriacum* var. *bevanii*) (Olanya in Larkin, 2006). Cimetova kislina pa je cimetova kislina iz cimetovca, ki naj bi potencialno delovala proti fitopatogenim glivam (Said in sod., 2004).

Paradižnik smo prvič škropili 23. 6. 2008, nato pa še 30. 6., 7. 7. in 10. 7. 2008. Okuženost paradižnika smo ocenjevali 7. 7., 17. 7., 23. 7., 25. 7. in 30. 7. 2008. Okuženo površino listov smo ocenili po EPPO lestvici (EPPO, 1997): ocena 0 – 0 % okužene rastline, ocena 1 – do 5 % okužene rastline, ocena 2 – 6-10 % okužene rastline, ocena 3 – 11-20 % okužene rastline, ocena 4 – 21-50 % okužene rastline, ocena 5 – več kot 50 % okužene rastline.

3 REZULTATI

7. 7. 2008 smo prvič ocenjevali okužbo paradižnika s plesnijo in ugotovili, da so bile rastline paradižnika najmanj okužene pri tretiranju s priporočenim fungicidom in pri škropljenju z borneolom ter da je bila manj okužen hibrid paradižnika S. chaser F1.

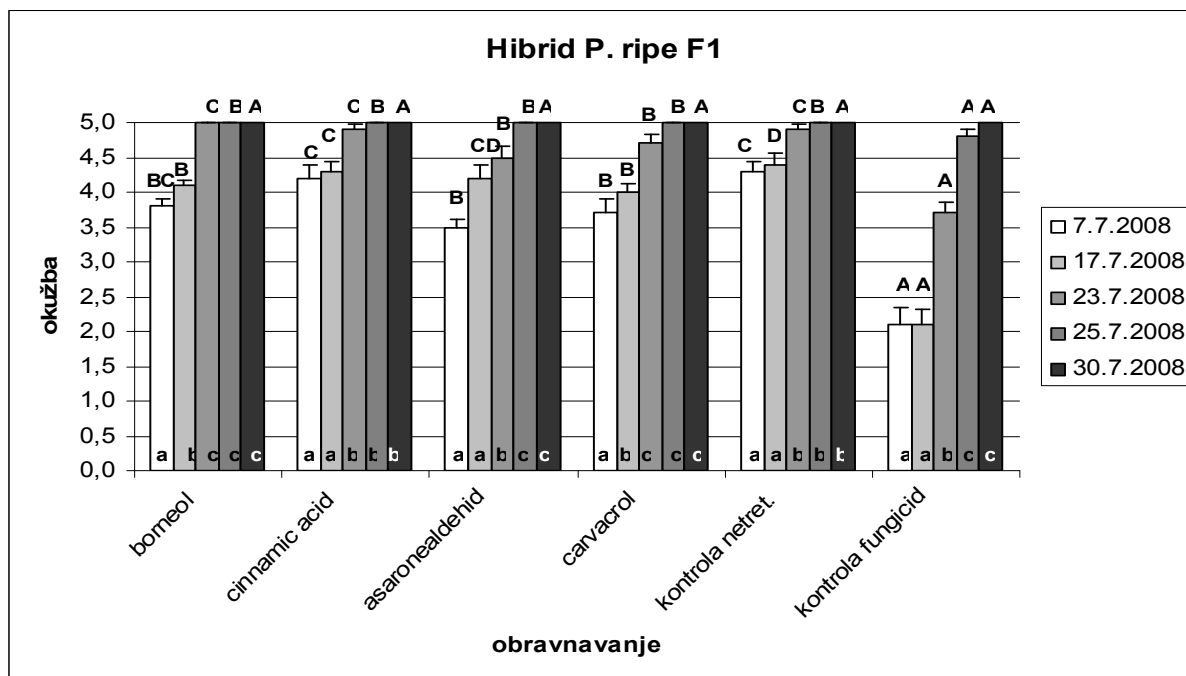
Kljub dobljenim rezultatom pa smo opazili velike razlike pri okužbi med bloki. Srednji blok je bil bolj okužen od zunanjih dveh in tudi rastline na sredini prvega in tretjega bloka so bile bolj okužene od tistih na začetku in koncu bloka. K okužbi je pripomogla visoka vlaga zaradi slabih vremenskih razmer, pregoste rasti paradižnika, polegih rastlin (rastline so bile brez opore) in gostega pasu plevla med bloki. 17. 7., 23. 7., 25. 7. in 30. 7. smo ocenjevali okužbo in merili maso okuženih ter zdravih plodov.



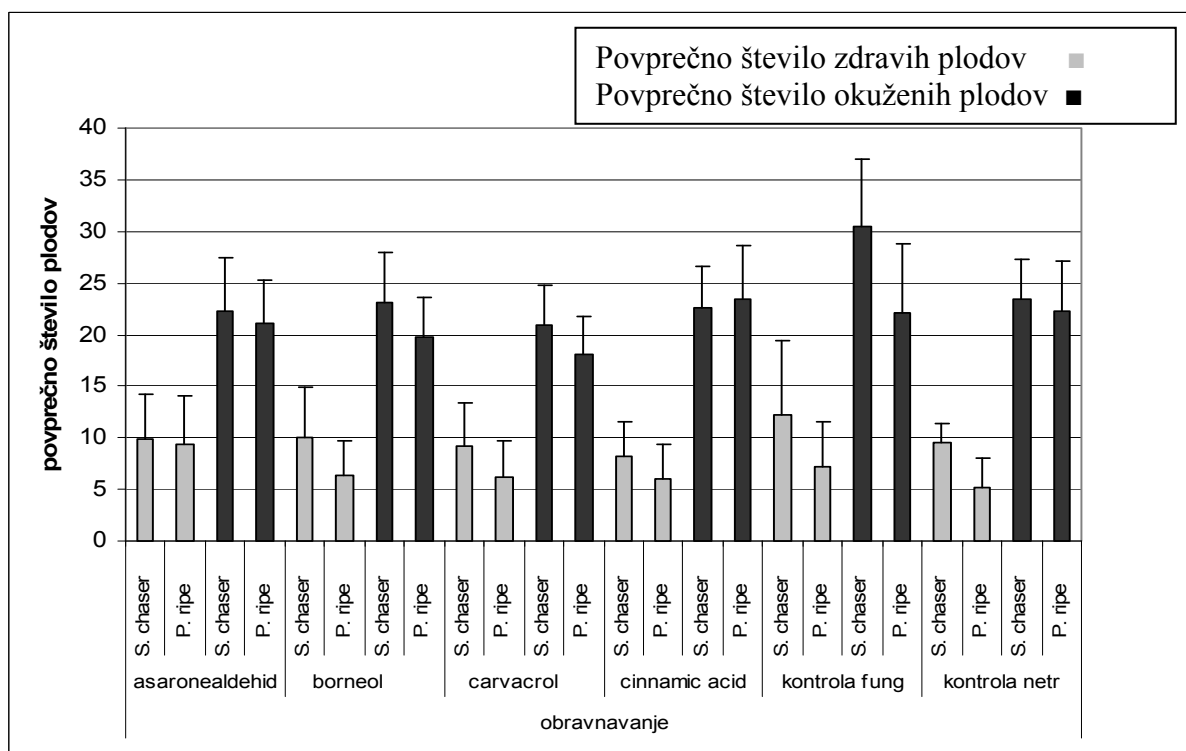
Slika 2: Prikaz okužbe z glivo *Phytophthora infestans* glede na obravnavanje in čas ocenjevanja pri hibridu S. chaser F1.

Okužba je pri hibridu Sun chaser F1 pri vseh obravnavanjih naraščala glede na čas ocenjevanja okuženosti z glivo *Phytophthora infestans*. Znotraj obravnavanja so se kazale statistično značilne razlike, ki so pokazale, da okužba narašča glede na čas ocenjevanja,

najmanj so bile rastline okužene 7. 7. 2008, ko smo prvič ocenjevali okuženost paradižnika. Med obravnavanji so se kazale statistično značilne razlike prve dni ocenjevanja, ko je bila najboljša kontrola s fungicidom Polyram DF, sledita pa mu borneol in karvakrol. Tudi pri nadaljnjem ocenjevanju se je kontrola s fungicidom izkazala za najboljšo, medtem ko so bila ostala obravnavanja zelo slaba.



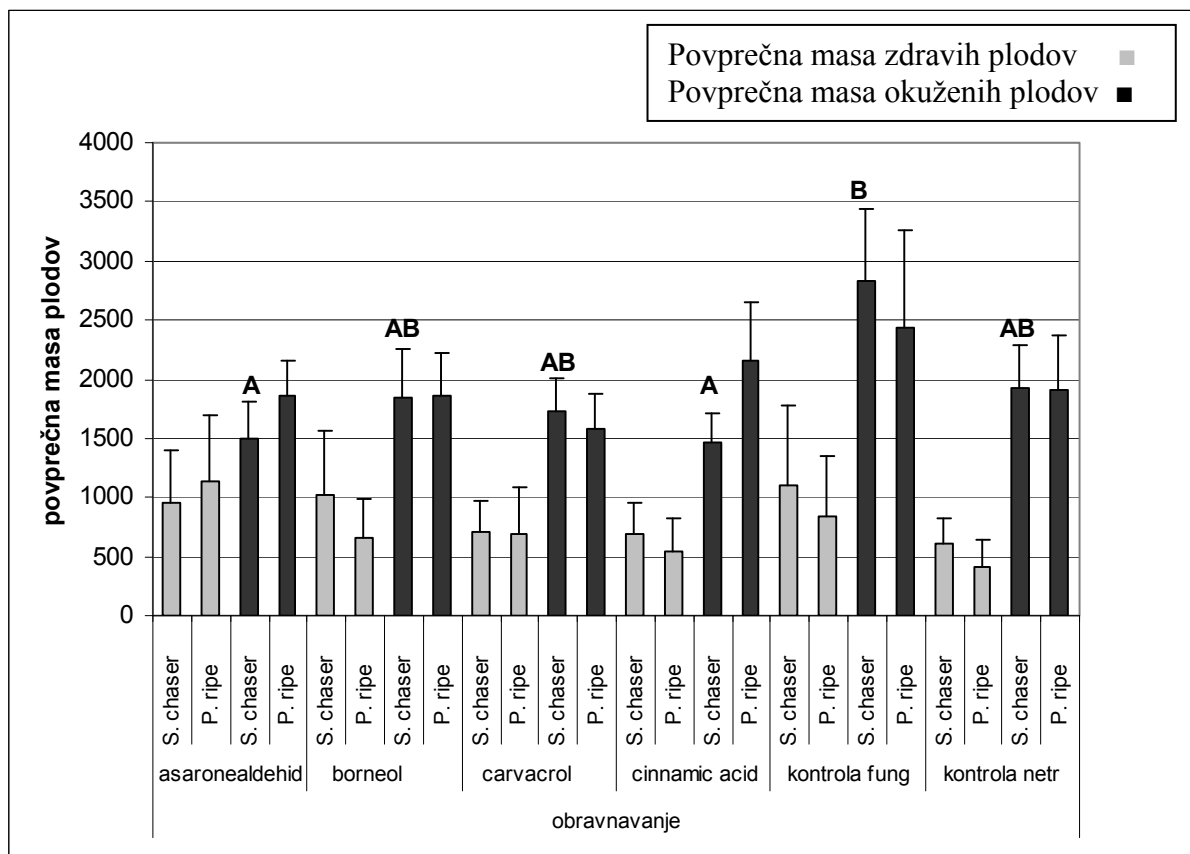
Slika 3: Prikaz okužbe z glivo *Phytophthora infestans* glede na obravnavanje pri hibridu P. ripe F1.



Slika 4: Prikaz povprečnega števila zdravih in okuženih plodov glede na obravnavanje pri obeh hibridih paradižnika.

Okužba je pri hibridu Pik ripe F1 pri vseh obravnavanjih naraščala glede na čas ocenjevanja okuženosti z glivo *Phytophthora infestans*. Znotraj obravnavanja so se kazale statistično značilne razlike, ki so pokazale, da okužba narašča glede na čas ocenjevanja, najmanj so bile rastline okužene 7. 7. 2008, ko smo prvič ocenjevali okuženost paradižnika. Med obravnavanji so se kazale statistično značilne razlike prve dni ocenjevanja, ko je bila najboljša kontrola s fungicidom Polyram DF, sledita pa mu azaronaldehid in karvakrol. Tudi pri nadaljnjem ocenjevanju se je kontrola s fungicidom izkazala za najboljšo, medtem ko so bila ostala obravnavanja zelo slaba.

Pri povprečnem številu plodov paradižnika ni statistično značilne razlike med obravnavanji tako pri zdravih kot tudi ne pri okuženih plodovih. Tudi med hibridoma ni razlike v številu zdravih in okuženih plodov.



Slika 5: Prikaz povprečne mase zdravih in okuženih plodov glede na obravnavanje pri obeh hibridih paradižnika.

Pri povprečni masi plodov paradižnika je statistično značilna razlika med obravnavanji pri masi okuženih plodov hibrida S. chaser F1, kjer so najmanjšo maso dosegla obravnavanja z azaronaldehidom in cimetovo kislino, največjo maso pa kontrola s fungicidom. Pri okuženih plodovih hibrida P. ripe F1 in pri vseh zdravih plodovih med obravnavanji ni statistično značilne razlike. Najmanjšo maso zdravih plodov smo dobili pri netretiranih rastlinah, največ pa na s priporočenim fungicidom tretiranih rastlinah. Hibrida S. chaser F1 in P. ripe F1 se glede na maso zdravih plodov ne razlikujeta statistično značilno. Hibrid S. chaser F1 je imel več zdravih plodov kot hibrid P. ripe F1.

Preglednica 1: Povprečno število in masa zdravih ter okuženih plodov dveh hibridov paradižnika glede na obravnavanja.

obravnavanje	Število zdravih plodov	Število okuženih plodov	Masa zdravih plodov (g)	Masa okuženih plodov (g)
Azaronaldehid	9,63	21,75	1047,25	1675,09
Borneol	8,25	21,38	838,79	1850
Karvakrol	7,71	19,50	701,8	1654,42
Cimetova kislina	7,13	23	613,63	1805,59
Kontrola netretirano	9,75	26,30	971,21	2633,46
Kontrola fungicid	7,33	22,92	510,05	1920,17
Skupaj povprečje	8,30	22,47	780,45	1923,12

Število in masa zdravih plodov paradižnika sta veliko manjša od števila in mase okuženih plodov. V povprečju je bilo 8,3 zdravih plodov in kar 22,47 okuženih plodov s skoraj trikrat večjo maso. Največja masa zdravih plodov je bila 1047,25 g pri obravnavanju z azaronaldehidom, največja masa okuženih plodov pa je bila kar enkrat večja in sicer pri netretiranem obravnavanju, kjer je znašala 2633,46 g.

4 SKLEPI

Hibrid paradižnika S. chaser F1 se je pokazal za nekoliko bolj odpornega od hibrida P. ripe F1. Najmanj okužene so bile rastline paradižnika, ki smo jih škropili s priporočenim fungicidom, sledijo pa rastline škropljene s karvakrolom in azaronaldehidom, nato borneolom ter cimetovo kislino in najbolj okužene rastline so bile tiste, ki so ostale netretirane.

Med obravnavanji z naravnimi snovmi ni bilo velike razlike pri okužbi paradižnika s paradižnikovo plesnijo in tudi pri številu in masi plodov se niso bistveno razlikovala.

Kljub slabim rezultatom preteklega leta bi bilo v letu 2009 vseeno dobro poskus ponoviti in ga nekoliko spremeniti. V poskus bi znova vključili borneol, karvakrol in azaronaldehid, dodali pa bi še sveži ekstrakt iz česna (*Allium sativum*), ki naj bi deloval na plesen tako preventivno kot tudi kurativno in naravni ekstrakt preslice (*Equisetum arvense*), ki naj bi izboljšal obrambo rastlin pred patogeni. Uporabili bi nedeterminantne sorte ali hibride paradižnika, ki bi jih privezali in pincirali, poleg tega pa bi morali pokositi plevele med posameznimi bloki in tako zmanjšati vlažnost, ki nudi idealne razmere za razvoj in širjenje bolezni.

5 ZAHVALA

Rezultati, predstavljeni v tem prispevku, so bili pridobljeni s finančno pomočjo Javne agencije za raziskovalno dejavnost RS in podjetja Unichem d.o.o. v okviru aplikativnega projekta L4-1013.

6 VIRI

- EPPO. 1997. EPPO Standards: Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products, Vol 2. European and Mediterranean Plant Protection Organization: 86-90
- Lee H.S. 2007. Fungicidal property of active component derived from *Acorus gramineus* rhizome against phytopathogenic fungi. *Bioresource technology* 98: 1324–1328
- Olanya O. M., Larkin R. P. 2006. Efficacy of essential oils and biopesticides on *Phytophthora infestans* suppression in laboratory and growth chamber studies. *Biocontrol Science and Technology* 16: 901 – 917
- Said S., Neves F. M., Griffiths A. J. F. 2004. Cinnamic acid inhibits the growth of the fungus *Neurospora crassa*, but is eliminated as acetophenone. *International biodeterioration & biodegradation* 54: 1-6

AKTIVNOST ENCIMOV FENILPROPANOIDNE POTI, KOT ODZIV TKIVA NA OKUŽBO Z JABLANOVIM ŠKRLUPOM (*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Wint.)

Ana LIKOZAR¹, Franci ŠTAMPAR², Maja MIKULIČ-PETKOVŠEK³, Robert VEBERIČ⁴

^{1,2,3,4} Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo, Ljubljana

IZVLEČEK

V poskusu smo želeli ugotoviti kako okužba z jablanovim škrlupom vpliva na delovanje encimov in vsebnost posameznih fenolov v kožici jabolka. Znano je, da okužba z glivo *Venturia inaequalis* spremeni metabolizem fenolov. Največ fenolov je vsebovalo okuženo tkivo (pega) in robno tkivo (okolica pege), najmanj pa zdrava kožica. Največjo encimsko aktivnost za PAL, CHS/CHI, DFR, FLS smo analizirali v pegi. Pega je imela 3,4 krat več hidroksicimetnih kislin, 1,1 krat več dihidrohalkonov in 1,4 krat več flavan-3-olov, v primerjavi z zdravo kožico.

Ključne besede: encimi, fenilpropanoidna pot, fenoli, flavanoidi, jablanov škrlup

ABSTRACT

ENZYME ACTIVITY OF PHENYLPROPANOID PATHWAY AS A TISSUE RESPONSE TO INFECTION WITH APPLE SCAB (*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Wint.)

The aim of the study was to evaluate how the infection with apple scab influences the enzyme activity and the content of different phenolic compounds in apple peel. Infection with the *Venturia inaequalis* fungus enhanced the metabolism of phenolics. The highest content of phenolic compounds had infected tissue (spot) and tissue around the spot, the lowest content had healthy apple peel. The highest enzyme activity for PAL, CHS/CHI, DFR, FLS were determined in scab spot. Scab spot showed in comparison to the healthy peel up to 3.4 times more hydroxycinnamic acids, up to 1.1 times more dihydrochalcones and up to 1.4 times more flavan-3-ols.

Keywords: apple scab, enzyme, flavanoids, phenolic, phenylpropanoid pathway

1 UVOD

V rastlini so fenoli pomembna skupina sekundarnih metabolitov, za katere je znano, da so vključeni pri naravni obrambi jablane proti različnim boleznim (npr. proti jablanovemu škrlupu). Vsebnost fenolnih snovi v tkivu lahko določa občutljivost/odpornost na glivične infekcije (Usenik *et al.*, 2004). Mnogi fenoli, zlasti fenolne kisline, so direktno vključeni v odziv rastline na različne oblike stresa. Fenolne kisline, so vključene pri lignifikaciji poškodovanih delov. Fenolne snovi imajo antimikrobno delovanje, saj njihova vsebnost

¹ mlada raziskovalka, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² prof. dr., prav tam

³ dr., prav tam

⁴ doc. dr., prav tam

naraste po infekciji (Bostock *et al.*, 1999). Prav tako je znano, da sta v obrambo proti jablanovemu škrlupu vključeni dve skupini flavonolov in dihidrohalkonov (Punyasiri *et al.*, 2005).

Okužba s patogeni izzove sintezo snovi, ki so vključene v obrambo pred patogenom (Treutter, 2001). Fenilalanin amonijak-liaza (PAL) je ključni encim med primarnim in sekundarnim metabolizmom. Katalizira spremembo aminokislina fenilalanin v cimeto kislino, ki je eden od ključnih intermediatov v nadaljnji poti (Halbwirth, 2002). Okužba z glivo poveča transkripcijo obveščevalne RNA, ki kodira PAL, le ta pa povzroči povečanje PAL-a v rastlini, ki kasneje stimulira sintezo fenolnih snovi. Halkon sintaza (CHS) in halkon izomeraza (CHI) sta naslednja encima v fenilpropanoidni poti, ki vodita v nastanek naringenina. Naringenin pa se kasneje s pomočjo flavanon-3-hidroksilaze (FHT) in dihidroflavonol-4-reduktaze (DFR) pretvori v prekurzorje za nastanek antocianov in flavan-3-olov. Flavonol sintaza (FLS) katalizira tvorbo flavonolov. Flavonoid-7-glukoziltransferaza (GTP) pa sodeluje pri nastanku floridzina (Treutter, 2001), ki ima obrambno funkcijo proti jablanovemu škrlupu.

V raziskavi smo spremljali odziv kože jabolk na okužbo z jablanovim škrlupom. Zanimalo nas je, ali obstaja razlika v vsebnosti posameznih fenolov in encimske aktivnosti med pego škrlupa, robnim tkivom med pego in zdravim delom kože ter zdravo kožico. Raziskava je bila opravljena na vsebnosti posameznih fenolov v povezavi z delovanjem encimov v fenilpropanoidni poti. Cilj raziskave je bil ugotoviti v katerih delih fenilpropanoidne poti je delovanje encimov povečano in kakšna je povezava z vsebnostjo fenolov, ki so vključeni v obrambo proti jablanovemu škrlupu.

2 MATERIAL IN METODE

Poskus smo izvedli na plodovih sorte 'Zlati delišes', ki so bili pridelani v poskusnem sadovnjaku Biotehniške fakultete v Ljubljani. Plodove smo obrali v tehnološki zrelosti 15. septembra 2008. Kožici plodov smo priredili tri obravnavanja; pego, okolico pege (1-2 mm) in zdravo tkivo. Vzorci smo zamrznili v tekočem dušiku in jih shranili pri -80°C do priprave vzorcev.

a. Priprava in določitev posameznih fenolov

Priprava vzorcev (različni deli kože) je bila opravljena po metodi Escarpa in Gonzalez (2000) z nekaterimi spremembami. 0,5 g vzorca smo prelili s 3 ml metanola z dodatkom 1% 2,6-di-tetra-butyl-4-metilfenola (BHT) in vzorce homogenizirali z ultrazvokom T-25 (Ika-Labotechnik). BHT smo vzorcem dodali, da smo preprečili oksidacijo v procesu ekstrakcije. Vzorce smo pustili 1 uro v ultrazvočni kopeli in nato centrifugirali na 10.000 obr./min 7 minut pri 10°C . Supernatant smo filtrirali skozi poliamidne filtre Chromafil A0-45/25 proizvajalca Macherey-Nagel (Düren, Nemčija). Analiza je bila opravljena z HPLC sistemom.

b. Določanje encimske aktivnosti

Encimska aktivnost je bila določena po metodi Halbwirth *et al.* (2002). Encimska aktivnost je bila podana na količino proteina, ki smo jih določili po modificirani metodi Sandermann in Strominger (1972).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Skupina hidroksicimetnih kislin je prva skupina fenolnih snovi, ki nastanejo v fenilpropanoidni poti. Različne rane na plodovih in listih preko aktivacije encima PAL vodijo v akumulacijo klorogenske kisline in flavonolov (Mayer *et al.*, 1999). V naši raziskavi smo ugotovili višjo vsebnost ferulne kisline in klorogenske kisline v pegi, v primerjavi z okolico pege in zdravim tkivom (preglednica 1).

Hradzinia *et al.* (1997) poroča, da je prisotnost floridzina v jabolku povezana z odpornostjo na jablanov škrlup. Ta trditev pa temelji na dejstvu, da je gliva sposobna pretvoriti floridzin v

aglikon floretin, ki je toksičen za glivo. V našem poskusu smo določili nižjo vsebnost floridzina v zdravem tkivu, kot v pegi in okolici pege (preglednica 1).

Hamazu *et al.* (2005) kot tudi Treuter in Freucht (1990) poročata, da tkivo okuženo z glivo *Venturia inaequalis* povzroči akumulacijo flavan-3-olov (epikatehin, katehin, procianidin B2, B5 in E-B5). V naši raziskavi smo prav tako določili večjo vsebnost katehina, epikatehina in procianidina B2 v pegi, kot v okolici pege in zdravem tkivu (preglednica 1).

Feucht *et al.* (1998) poročajo, da se kot odgovor na okužbo v njeni okolici nalagajo flavonoli, ki preprečujejo njeno nadaljnje širjenje. Feucht *et al.* (1998) poročajo, da je kemična analiza tkiva jabolane pokazala akumulacijo flavonolov v območju 1-2 mm v okolici okužbe. Skupna koncentracija flavonolov v našem poskusu kaže, da je njihova vsebnost večja v okolici pege kot v zdravem tkivu in sami pegi (preglednica 2).

Preglednica 1: Vsebnost posameznih fenolov (mg/100g sveže mase) v različnih delih kože jabolka pri sorti 'Zlati delišes'. Različne črke pomenijo statistično značilno razliko med različnimi deli kože (Duncanov test, $p < 0,05$).

Table 1. The content of single phenolic compounds (mg/100g FW peel) in apple peel at 'Golden Delicious' cultivar. Different letters denoted statistically significant differences between different parts of peel (Duncan test, $p < 0.05$).

	p-kumarna kislina	klorogenska kislina	kavina kislina	ferulna kislina	epikatehin	katehin	procianidin B2	floridzin
okolica pege	1,66 ± 0,51	2,14 ± 0,24b	1,48 ± 0,18	0,04 ± 0,01a	27,09 ± 3,93a	2,42 ± 0,50a	36,97 ± 1,71	181,40 ± 57,25
pega	3,23 ± 1,50	10,13 ± 0,42c	1,54 ± 0,20	0,24 ± 0,05b	35,00 ± 0,27b	7,95 ± 1,07b	46,43 ± 3,81	192,54 ± 20,06
zdravo	2,24 ± 0,31	0,87 ± 0,11a	1,35 ± 0,11	0,05 ± 0,01a	23,06 ± 1,47a	2,73 ± 0,70a	39,53 ± 3,09	174,75 ± 31,14

Preglednica 2: Vsebnost posameznih fenolov (mg/100g sveže mase) v različnih delih kože jabolka pri sorti 'Zlati delišes'. Različne črke pomenijo statistično značilno razliko med različnimi deli kože (Duncanov test, $p < 0,05$).

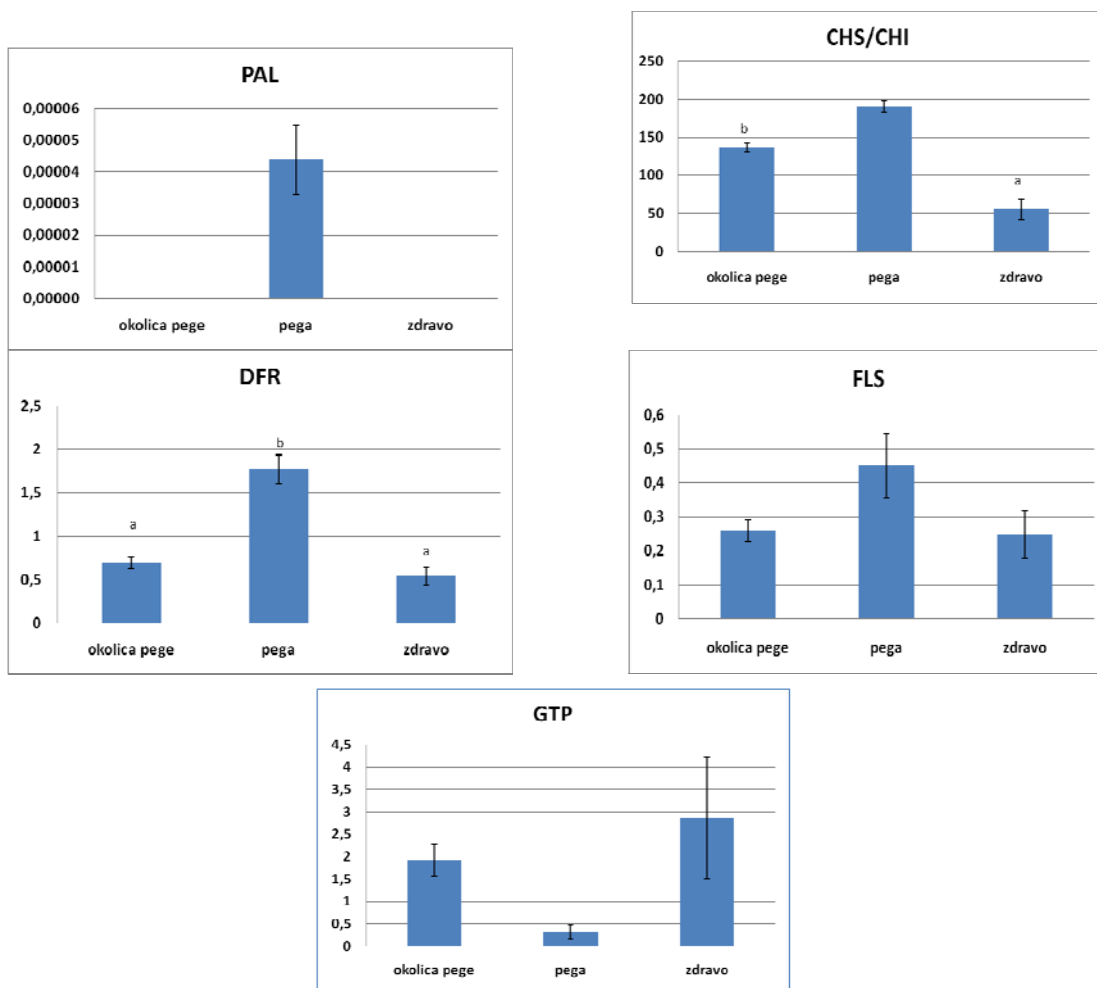
Table 2: The content of single phenolic compounds (mg/100g FW peel) in apple peel at 'Golden Delicious' cultivar. Different letters denoted statistically significant differences between different parts of peel (Duncan test, $p < 0.05$).

	rutin	Q-3-glukozid	Q-3-galaktozid	Q-3-ramnozid	skupni kvercetini
okolica pege	0,37 ± 0,17	24,68 ± 3,99	42,55 ± 4,36	170,72 ± 29,53	238,32 ± 38,04
pega	0,29 ± 0,14	17,61 ± 2,06	28,22 ± 2,54	101,77 ± 17,88	147,89 ± 7,03
zdravo	1,00 ± 0,40	23,58 ± 6,04	36,87 ± 7,82	149,10 ± 28,67	210,55 ± 24,61

PAL je ključni encim med primarnim in sekundarnim metabolizmom in je ključen za regulacijo nastanka različnih fenolnih snovi. V naši raziskavi smo ugotovili nizko aktivnost tega encima le v pegi, medtem ko nismo zaznali njegove aktivnosti v okolici pege in zdravem tkivu (slika 1). Naslednji pomemben encim v fenilpropanoidni poti je CHS/CHI, s pomočjo katerega nastane naringenin. Pri aktivnosti CHS/CHI smo zaznali 100 krat višjo aktivnost v vseh analiziranih delih kože, glede na aktivnost ostalih encimov. Višjo encimsko aktivnost CHS/CHI smo določili v pegi, ki ji sledi aktivnost v okolici pege in zdravem tkivu (slika 1). Visoko aktivnost CHS/CHI razlagamo z dejstvom, da je njegov produkt pomemben pri tvorbi nadaljnjih fenolnih snovi, katerih sinteza se ob okužbi poveča.

Aktivnost encima DFR je bila nižja v zdravem tkivu, višja pa v pegi. Encim FLS je pomemben pri nastanku flavonolov, med katere uvrščamo tudi kvercetine. Visoko aktivnost FLS smo zaznali v pegi, kar pa nasprotuje ugotovitvam, da se kvercetini kopičijo v okolici okužbe, kjer služijo kot pregrada za preprečitev nadaljnje širitve okužbe (slika 1).

GTP sodeluje pri nastanku floridzina. Pri tem encimu je bila v nasprotju z ostalimi encimi nižja aktivnost v pegi, višja pa v zdravem tkivu (slika 1). Vzrok za nižjo aktivnost GTP je morda v tem, da je vsebnost produkta (floridzina) tega encima visoka v pegi, glede na ostale analizirane dele.



Slika 1: Encimska aktivnost izražena v $\text{nmol/s} \cdot \text{g}_{(\text{protein})}$. Različne črke pomenijo statistično značilne razlike med različnimi deli kože (Duncanov test, $p < 0,05$).

Figure 1: Enzyme activity in $\text{nmol/s} \cdot \text{g}_{(\text{protein})}$. Different letters denote statistically significant differences between different parts of peel (Duncan test, $p < 0.05$).

4 SKLEPI

Iz rezultatov sklepamo, da fenoli sodelujejo v obrambnem mehanizmu jablan proti jablanovemu škrlupu. Vsebnost fenolov je višja v pegi, nižja pa v okolici pege. Skupna vsebnost kvercetinov kaže akumulacijo teh v okolici pege, kar kaže da se v okolici tvori varovalna bariera. Encimska aktivnost fenilpropanoidne poti je v okuženem tkivu bistveno višja kot v zdravem tkivu.

5 LITERATURA

Bostock R.M., Wilcox S.M., Wang G., Adaskaveg J.E. 1999. Suppression of *Monilinia fructicola* cutinase production by peach fruit surface phenolic acid. *Physiological and molecular plant pathology*. 54: 37-50

- Escarpa, A., Gonzalez, M.C., 2000. Optimatization strategy and validation of one chromatographic method as approach to determine the phenolic compounds from different sources. *Journal of Chromatogr. A* 897, 161-170
- Feucht W., Treutter, D., Schwalb, P., 1998. Principles of barrier formation of scab infected apple fruits. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. 105, 4: 394-403
- Hrazdina, G., Borejsza-Wysocki, W., Lester, C., 1997. Phytoalexin production in an apple cultivar resistant to *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*. 87, 3; 868-876
- Hamazu Y., Yasui H., Inno, T., Kume, C., Omanyuda M., 2005. Phenolic profile, antioxidant property, and anti-influenza viral activity of chinense quince (*Pseudocarya sinensis* Schneid.), quince (*Cydonia oblonga* Mill.), and apple (*Malus domestica* Mill.) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 928-934
- Mayr U., Batzdorfer R., Treutter D., Feucht W., 1994. Surfactant-induced changes in phenol content of apple leaves and fruit skins. *Acta Horticulturae*. 381: 479-487
- Punyasiri, P.A.N., Abeyasinghe, I.S.B., Kumar, V., 2005. Preformed and induced chemical resistance of tea leaf against *Exobasidium vexans* infection. *Journal of Chemical Ecology*. 31, 6: 1315-1324
- Sandermann, H., Strominger, L., 1972. Purification and properties of C55 – isoprenoid alcohol phosphokinase from *Staphylococcus aureus*. *Journal Biol. Chem.* 247: 5123-5131
- Treutter, D., 2001. Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in apple. *Plant Growth Regulation*. 34: 71-89
- Treutter D., Feucht W., 1990. Accumulation of flavan-3-ols in fungus-infected leaves of Rosaceae. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. 97: 634-641
- Usenik, V., Mikulic-Petkovsek, M., Solar, A., Stampar, F., 2004. Flavonols of leaves in relation to apple scab resistance. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. 111, 137-144

PRVE BREZVIROIDNE RASTLINE HMELJA (*Humulus lupulus* L.) V SLOVENIJI

Lucija LESKOVŠEK¹, Sebastjan RADIŠEK², Nataša FERANT³, Andreja ČERENAK⁴,
Vlasta KNAPIČ⁵

^{1,2}Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Žalec

^{3,4}Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za rastline, tla in okolje, Žalec

⁵Fitosanitarna uprava RS, Sektor za zdravstveno varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

Na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije smo z namenom zagotovitve kakovostnega in neokuženega sadilnega materiala, začeli z eliminacijo hmeljevega latentnega viroida (HLVd) in vzgojo prvih brezviroidnih matičnih rastlin. Raziskave so pokazale, da okužba s HLVd vpliva na zmanjšanje količine pridelka, kar je posledica slabšega razvoja storžkov, obenem pa ima tudi vpliv na zmanjšanje vsebnosti alfa kislin v pridelanem hmelju. V Sloveniji je bila potrjena vsesplošna razširjenost hmeljevega latentnega viroida (HLVd) v matičnih rastlinah, tkivnih kulturah, brezvirusnih sadikah in pridelovalnih nasadih hmelja, čemur je v največji meri pripomoglo vegetativno razmnoževanje okuženih rastlin. Pri vzgoji novih sort se HLVd v procesu križanja izloči po naravni poti, saj se le redko prenaša preko semena, v primeru starih sort, pa je bilo potrebno izvesti eliminacijo HLVd s kulturo meristemov. Iz mladih poganjkov matičnih rastlin smo v aseptičnih razmerah izolirali meristeme in jih kultivirali *in vitro* na MS gojišču, ki je vsebovalo 2 mg/l BAP in 20 g/saharoze. Regenerirane rastline smo v stadiju 2 razvitih nodijev predstavili na gojišče za ukoreninjenje (0,2 mg/l IBA) in jih nato vsake 4 do 6 tednov prenesli na sveže gojišče, do starosti 3-4 mesecev v odvisnosti od sorte. Uspešnost regeneracije izoliranih meristemov apikalnih in lateralnih poganjkov hmelja se je gibala med 18 in 60 odstotki v odvisnosti od sorte. Po približno 4 mesecih smo rastline testirali na zastopanost HLVd z RT-PCR metodo. Z zdravimi rastlinami smo nadaljevali postopek aklimatizacije na razmere *in vivo* in jih nato vključili kot brezviroidne matične rastline v proizvodnjo certificiranega sadilnega materiala hmelja.

Ključne besede: hmelj, *Humulus lupulus*, matične rastline, viroid, HLVd, eliminacija, RT-PCR

ABSTRACT

FIRST VIROID-FREE HOP PLANTS (*Humulus lupulus* L.) IN SLOVENIA

The Slovenian Institute for Hop Research and Brewing has started the elimination of hop latent viroid (HLVd) and has obtained the first viroid-free mother plants. Establishing healthy plant material is clearly an essential prerequisite to get high and quality yield. Studies have revealed that HLVd is capable of causing moderate to severe yield loss in terms of cone yields and alpha-acid content. HLVd is widespread in Slovenian hops and has been detected in mother plants, tissue cultures, virus-free planting material and in commercial hop gardens,

¹ dr., Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec

² dr., prav tam

³ mag., prav tam

⁴ dr., prav tam

⁵ univ. dipl. inž. agr., Einspielerjeva 6, SI-1000 Ljubljana

which is a result of vegetative propagation of infected plants. HLVd could be eliminated naturally by breeding of new hop varieties, because it is rarely transmitted by the seeds. For HLVd elimination from old hop varieties, meristem culture technique has been used. The production of healthy plant material was performed by excising meristems from newly emerged sprouts of mother plants under aseptic conditions. The meristem tips were cultivated *in vitro* on a MS medium with 2 mg/l BAP and 20 g/l sucrose. When on the regenerated plants 2 internodes were developed, they were transferred to a MS growth medium with 0.2 mg/l IBA and every 4 to 6 weeks of culture were transferred into a fresh growth medium. *In vitro* regeneration ability varied between 18 and 60 % depended on the variety. After approximately 4 months, successfully regenerated hop plants were tested for the presence of HLVd by the RT-PCR method. Healthy hop plants, free of HLVd, were acclimatized to *in vivo* conditions and are used as a mother plants for further propagation of certified hop plant material.

Key words: hop, *Humulus lupulus*, mother plants, viroid, HLVd, elimination, RT-PCR

1 UVOD

Na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) smo z namenom zagotovitve kakovostnega in zdravega sadilnega materiala, začeli z eliminacijo hmeljevega latentnega viroida (HLVd) in vzgojo prvih brezviroidnih matičnih rastlin. Viroidi so najmanjši rastlinski patogeni, ki so se v rastlinski celici sposobni sami razmnoževati in povzročajo različne pomembne bolezni višjih rastlin. Evropski hmelj je vsesplošno okužen s hmeljevim latentnim viroidom (HLVd), ki povzroča latentno bolezen hmelja in na večini sort ne kaže vidnih bolezenskih znamenj. Rastline slabi na celični ravni in tako negativno vpliva na pridelek in vsebnost alfa kislin in eteričnih olj (Barbara in sod., 1990). V Angliji so v primerjavi okuženih rastlin s HLVd z neokuženimi ugotovili, da je pridelek alfa kislin lahko manjši za 20 do 50 %, odvisno od sorte (Morton in sod., 1993). V Sloveniji je bila potrjena vsesplošna razširjenost hmeljevega latentnega viroida (HLVd) v matičnih rastlinah, tkivnih kulturah, brezvirusnih sadikah in pridelovalnih nasadih hmelja, čemur je v največji meri pripomoglo vegetativno razmnoževanje okuženih rastlin. Pri vzgoji novih sort se HLVd v procesu križanja izloči po naravni poti, saj se le redko prenaša preko semen. V primeru že uveljavljenih sort, pa je bilo potrebno izvesti eliminacijo HLVd s kulturo meristemov.

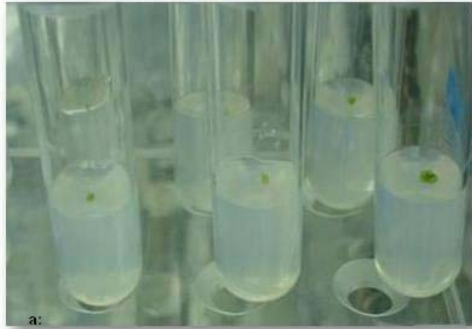
2 MATERIAL IN METODE

Za eliminacijo viroida smo kot izvorni material uporabili izvorne matične rastline slovenskih sort hmelja (Savinjski golding, Aurora, Celeia, Bobek, Atlas, Cerera, Buket, Blisk) in nemške sorte Magnum, ki jih vzdržujemo v rastlinjaku na IHPS za potrebe razmnoževanja in vzgoje sadik hmelja. V začetku meseca marca, ko so izvorne matične rastline zaele odganjati, smo nabrali poganjke, jih razkužili v 1,66 % raztopini dinatrij dikloroizocianurne kisline (Sigma Aldrich) z dodatkom močila Tween-20. Iz razkuženih brstov smo pod stereomikroskopom izolirali rastne vršičke z meristemom in najmanj dvema primordialnima listoma.

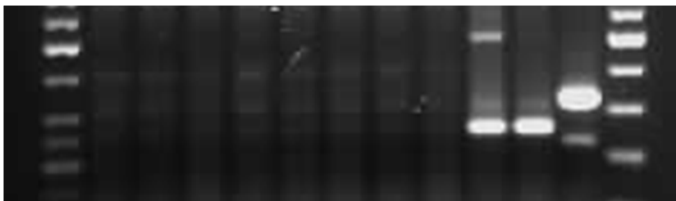
Za iniciacijo brstov smo izolirane meristeme kultivirali na gojišče MS z 2 mg/l rastnega regulatorja benzilaminopurina (BAP) (slika 1 a; b). Regeneriranim rastlinam smo v fazi 2-3 internodijev izolirali celokupne nukleinske kisline po CTAB metodi, čemur je sledila RT-PCR reakcija (Hataya in sod., 1992) s katero smo analizirali prisotnost HLVd (slika 2).

Po testiranju na prisotnost viroida smo rastline s pozitivnim signalom za HLVd ustrezno odstranili, tiste z negativnim signalom pa smo predstavili na gojišče MS z 0,2 mg/l indolocetne kisline (IBA). Rastline smo subkultivirali na 4 do 6 tednov na sveže gojišče do oblikovanja korenin. Po potrebi smo pri posameznih regenerantih odstranili kalus, ki se pri regeneraciji hmelja pogosto oblikuje in prekine dostop hranil v rastlino ter ovira nadaljnjo rast. Brezviroidne rastline, ki so že imele oblikovane korenine, smo presadili v šotne tabletko

(gnojilo Nitramix - 12:6:6) in jih prestavili v mini rastlinjake, kjer smo nadzorovali vlago, jih oskrbovali z vodo in hranili.



Slika 1: a) b) Kultiviranje izoliranih meristemov na gojišču MS z 2 mg/l BAP v rastni komori.



Slika 2: Prikaz RT-PCR analize.

Po približno 4 tednih smo aklimatizirane rastline prestavili v večje lončke s šotnim substratom in prenesli v rastlinjak na vzdrževanje rastlinskega materiala za potrebe nadaljnjega razmnoževanja in vzgoje brezviroidnih certificiranih sadik hmelja (slika 3 a; b).



Slika 3: a) Aklimatizacija brezviroidnih rastlin v šotnih tabletkah; b) vzgoja brezviroidnih sadik hmelja v rastlinjaku.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Za uspešno pridelavo hmelja je potrebno zagotoviti zdrav sadilni material, saj le tako lahko pričakujemo kakovosten in visok pridelek, preprečimo pa tudi nadaljnje širjenje viroidnih bolezni. V okviru strokovne naloge s področja varstva in registracije sort rastlin ter semenarstva (področje Vzgoja osnovnega genetskega materiala) smo eliminirali viroid HLVd

pri pomembnejših, tržno zanimivih slovenskih sortah hmelja kot so: Savinjski golding, Aurora, Celeia, Bobek, Atlas, Cerera, Buket, Blisk in nemški sorti Magnum. Tehnika je dokaj zahtevna, saj moramo biti precej hitri in natančni, da ne poškodujemo meristema, ki meri manj kot 0,5 milimetra. Uspešnost regeneracije izoliranih meristemov apikalnih in lateralnih poganjkov hmelja se je gibala med 18 in 60 odstotki v odvisnosti od sorte. Po približno 4 mesecih smo rastline testirali na prisotnost HLVd z molekularno tehniko RT-PCR. Z zdravimi rastlinami smo nadaljevali postopek aklimatizacije na *in vivo* pogoje in jih vključili kot brezviroidne matične rastline za proizvodnjo certificiranega sadilnega materiala hmelja.

4 LITERATURA

- Morton A., Barbara D.J., Adams A.N., 1993. The distribution of hop latent viroid within plants of *Humulus lupulus* and attempts to obtain viroid-free plants. *Annals of Applied Biology* 123: 47-53.
- Barbara D.J., Morton A., Adams A.N., Green C.P., 1990. Some effects of hop latent viroid on two cultivars of hop (*Humulus lupulus*) in the U.K. *Annals of Applied Biology* 117: 359-366.
- Hataya T., Katsuyuki H., Suda N., Nagata T., Shifang L., Itoga Y., Tanikoshi T., Shikata E., 1992. Detection of hop latent viroid (HLVd) using reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR). *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 58: 677-684.

PREŽIVETJE IN INFEKTIVNOST VIRUSA MOZAIKA PEPINA (PepMV) V VODNEM OKOLJU

Nina PREZELJ¹, Duška DELIĆ², Ion GUTIERREZ AGUIRRE³, Magda TUŠEK
ŽNIDARIČ⁴, Nataša MEHLE⁵, Maja RAVNIKAR⁶

^{1,3,4,5,6}Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo,
Ljubljana

²Univerza v Banjaluki, Fakulteta za agrikuluro, Bosna in Hercegovina

IZVLEČEK

Virus mozaika pepina (PepMV) uvrščamo v družino *Flexiviridae* in rod *Potexvirusov*. Prvič je bil opisan na rastlinah pepina (*Solanum muricatu*) iz Peruja, danes pa je razširjen po celem svetu in povzroča resne težave predvsem pri gojenju paradižnika. Virus se z lahkoto prenaša mehansko, njegov specifični prenašalec ni znan, raven prenosa s semeni je nizka. Pokazali so možnost prenosa virusa preko krožeče hranilne raztopine v hidroponičnem sistemu, zato smo ugotavljali njegovo preživetje in ohranjanje infektivnosti v vodnem ne-gostiteljskem okolju. Dva različka virusa smo namnožili ločeno v propagacijski rastlini *Datura stramonium*. Okužene liste smo narezali v vodo in inkubirali pri 25 °C. Vsak teden smo analizirali inokulum okužene vode. Preživetje in infektivnost virusa smo določali z inokulacijo testnih rastlin *Datura stramonium* in spremljanjem pojava simptomov ter z določanjem prisotnosti virusa s pomočjo hitrega testa za detekcijo PepMV (Lateral flow) in RT-PCR v realnem času v enem koraku. Tako evropski kot čile 2 različek virusa PepMV sta ostala infektivna vse do treh tednov po inkubaciji v vodi. Razmeroma dolgo preživetje in infektivnost virusa v vodnem ne-gostiteljskem okolju opozarja na vodo kot potencialen vir okužbe s PepMV.

Ključne besede: infektivnost, PepMV, preživetje, voda

SURVIVAL AND INFECTIVITY OF PEPINO MOSAIC VIRUS (PepMV) IN AQUEOUS ENVIRONMENT

ABSTRACT

Pepino mosaic virus (PepMV) belongs to the genus *potexvirus* within the family *Flexiviridae* and was first described in pepino plants (*Solanum muricatum*) in Peru. It is highly mechanically transmitted and has spread throughout the world causing serious problems for tomato production. It is readily sap transmitted, a specific insect vector for PepMV transmission is not yet identified while the rate of seed transmission is very low. Because it has been indicated that PepMV can spread in hydroponic system via nutrient solution, survival and infectivity of the virus in an aqueous non-host environment was determined. Two PepMV strains, European and Chile 2, were separately propagated in *Datura stramonium* plants. Then infected leaves were chopped in to water and incubated at 25 °C. Every week

¹ univ. dipl. biokem., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

² mag., Univerzitetni grad Bulevar vojvode Petra Bojovića 1A, B&H-78000 Banjaluka

³ dr., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

⁴ dr., prav tam

⁵ mag., prav tam

⁶ prof. dr., prav tam

part of the inoculum was tested. Virus infection was monitored by weekly inoculation of *Datura stramonium* test plants and observation of symptoms development together with PepMV lateral flow test and single step real time RT-PCR. Both strains remained infective after being in water for up to 3 weeks. Relatively long virus survival and infectivity in an aqueous non-host environment call for attention to water as a source of infection with PepMV.

Key words: infectivity, PepMV, survival, water

1 UVOD

Virus mozaika pepina (PepMV), ki je bil prvič dokazan na rastlinah pepina (*Solanum muricatum*) v Peruju (Jones in sod., 1980) so v Evropi prvič dokazali leta 1999 v Veliki Britaniji in na Nizozemskem na rastlinah paradižnika (Wright in sod., 1999 ter van der Vlugt in sod., 2000). Od takrat naprej vedno več Evropskih držav poroča o pojavu virusa, in ker povzroča resne težave predvsem pri gojenju paradižnika v rastlinjakih, je danes uvrščen na EPPO (European Plant Protection Organization) opozorilni seznam. PepMV spada v družino *Flexiviridae* in rod *Potexvirusov*. Virus se z lahkoto mehansko prenaša, dokazana je tudi nizka raven prenosa virusa s semeni (projekt Pepeira, 6. okvirni program EU). Mehansko lahko PepMV prenašajo čmrlji (Lacasa in sod., 2003), vendar pa specifični prenašalec virusa ni poznan (Lopez in sod., 2005). Zadnjih trideset let v svetu narašča pridelava paradižnika v hidroponičnih sistemih, saj omogočajo bolj kontrolirane pogoje gojenja. Schwarz in sodelavci (2009) so pokazali, da je v hidroponičnem sistemu možen prenos PepMV preko krožeče hranilne raztopine. Dokazali so prenos virusa iz okuženih na neokužene rastline paradižnika, niso pa uspeli detektirati virusa v hranilni raztopini. Ker je prenos možen, nas je zanimalo, koliko časa PepMV preživi in ostane infektiven v vodnem ne-gostiteljskem okolju. V test preživetja in infektivnosti smo vključili dva različka PepMV, evropski različek (EU) in bolj agresiven različek čile 2 (Ch2).

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Priprava vodnih vzorcev s PepMV

Oba različka PepMV smo ločeno namnožili na testnih rastlinah *Datura stramonium* in nato na sledeč način pripravili vodna vzorca, okužena s posameznim različkom: liste 10 okuženih rastlin *D. stramonium* smo narezali na trakove in jih inkubirali z mešanjem v 1 L vode iz pipe 2 h pri 25 °C. Vodo smo po inkubaciji prefiltrirali skozi gazo in jo 7 tednov hranili na sobni temperaturi.

2.2 Testiranje preživetja in infektivnosti

Takoj po pripravi in nato enkrat tedensko smo s tako pripravljenima vzorcema okužene vode inokulirali po 3 testne rastline *D. stramonium* za vsak vzorec. Inokulum smo pripravili z mešanjem vodnega vzorca s pufrom za mehansko inokulacijo (20 mM natrijev fosfatni puffer z dodanim PVP (Mw10.000), pH 7,4) v razmerju 1:1. Infektivnost smo ugotavljali s spremljanjem pojava simptomov, s pomočjo hitrega testa za detekcijo PepMV (Lateral flow, Forsite diagnostics) in z RT-PCR v realnem času v enem koraku (ss-RT-qPCR) (Ling, 2007). Okužbo rastlin smo preverili 7 dni po njihovi inokulaciji (dpi), v primeru negativnih rezultatov pa tudi kasnejše dpi. Vsak teden smo z RT-PCR v realnem času v enem koraku preverili tudi prisotnost PepMV v obeh vodnih vzorcih.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Iz rezultatov (preglednica 1) je razvidno, da oba različka PepMV, EU in Ch2, ostaneta infektivna vse do 3 tednov po inkubaciji v vodi na sobni temperaturi. Rezultati hitrega testa za detekcijo PepMV (Lateral Flow) sovpadajo z rezultati RT-PCR v realnem času v enem koraku. Poleg tega so tudi okužene rastline *D. stramonium* kazale simptome okužbe v obliki neenakomernega razbarvanja in/ali gubanja listne površine.

Za ugotavljanje infektivnosti PepMV smo uporabili propagacijske rastline *D. stramonium*, saj smo želeli določiti infektivnost tudi v primeru nižjih koncentracij virusa. V primeru, da je virus ostal infektiven po inkubaciji v vodi, se je dobro namnožil v rastlinah *D. stramonium*, saj smo ga v vseh primerih zaznali tudi z manj občutljivim, hitrim diagnostičnim Latelar flow testom.

V vodi smo sicer zaznali prisotnost RNA obeh različkov vseh 7 tednov inkubacije, vendar sklepamo, da zaradi neuspešne inokulacije rastlin po 3 tednu inkubacije virus ni preživel oziroma se je količina infektivnih virusov zmanjšala pod mejo uspešne okužbe rastlin. Možno pa je tudi, da je infektivnih virusnih delcev v vodnem vzorcu tako malo, da jih pri vzorčenju vode za pripravo inokulata nismo zajeli.

Preglednica 1: Rezultati spremljanja prisotnosti in infektivnosti dveh PepMV različkov (EU in Ch2) v vodi. Pozitiven rezultat inokulacije pomeni, da je bila uspešno okužena vsaj ena od treh rastlin *D. stramonium*.

št. tednov po okužbi vode	Detekcija PepMV v okuženi vodi		Infektivnost PepMV (uspešnost inokulacije rastlin <i>Datura stramonium</i>)			
	EU različek	Ch2 različek	EU različek		Ch2 različek	
	ss-RT-qPCR		Lateral flow	ss-RT-qPCR	Lateral flow	ss-RT-qPCR
0	+	+	+	+	+	+
1	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+
4	+	+	-	-	-	-
5	+	+	-	-	-	-
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	-	-	-	-

4 SKLEPI

Razmeroma dolgo preživetje in infektivnost PepMV v vodnem ne-gostiteljeskem okolju opozarja na vodo, kot potencialen vir okužbe s PepMV. To je še posebej pomembno v primeru pridelave paradižnika v hidroponičnih namakalnih sistemih.

5 LITERATURA

- Jones RAC, Koenig R, Lesemann DE. 1980. Pepino mosaic virus, a new potexvirus from pepino. *Annals of Applied Biology* 94, 61-8.
- Wright D, Mumford R. 1999. Pepino Mosaic Potexvirus (PepMV): First Records in Tomato in the United Kingdom. *Plant Disease Notice No. 89*. York, UK: Central Science Laboratory.
- van der Vlugt RAA, Stijger CCMM, Naaldwijk AA, Verhoeven JTJ, Lesemann DE. 2000. First report of Pepino mosaic virus on tomato. *Plant Disease*, 84, 103.

- Ling K.S. 2007. Molecular characterization of two Pepino mosaic virus variants from imported tomato seed reveals high levels of sequence identity between Chilean and US isolates. *Virus Genes*, 34: 1-8
- Schwarz, D., Paschek, U., Bandte, M., Büttner, C. and Obermeier, C. 2009. Detection, Spread and Interactions of Pepino Mosaic Virus and *Pythium Aphanidermatum* in the Root Environment of tomato in hydroponics. *Acta Hort. (ISHS)* 808:163-170
- Lacasa A., Guerrero M.M., Hita I., Martínez M.A., Jordá C., Bielza P., Contreras J., Alcázar A., Cano A. 2003. Implication of bumble bees (*Bombus* spp.) on *Pepino mosaic virus* (PepMV) spread on tomato crops. *Plagas*, 29, 3: 393
- Lopez C., Soler S., Nuez F. 2005. Comparison of the complete sequences of three different isolates of *Pepino mosaic virus*: size variability of the TGBp3 protein between tomato and *L. peruvianum* isolates. *Archives of Virology*, 150: 619–627

TEŽAVE Z BAKTERIJO *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* PRI PRIDELAVI SADILNEGA MATERIALA PEČKATEGA SADJA

Ema PAVLIČ NIKOLIĆ¹, Gabrijel SELJAK²

¹Ministrstvo za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano, Inšpektorat RS za kmetijstvo,
gozdarstvo in hrano, Fitosanitarna inšpekcija Celje

²Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica

IZVLEČEK

Bolezni, ki jih povzroča bakterija *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, so v naravi precej pogoste, občasno pa se pojavlja z močnejše izraženimi bolezenskimi znamenji posebno na različnih sadnih vrstah. Bakterija je po Zakonu o semenskem materialu kmetijskih rastlin in podzakonskih aktih uvrščena na seznam škodljivih organizmov in bolezni, ki lahko vplivajo na kakovost pridelanih sadik. Sadike, ki se tržijo morajo izpolnjevati zahteve, da so proste škodljivih organizmov in na njih ne sme biti navzočih vizualnih znamenj prisotnosti okužbe. Fitosanitarna inšpekcija je v okviru rednega nadzora pridelave sadilnega materiala v sadjarstvu z vizualnimi pregledi opazila, da se v zadnjem času vse pogosteje pojavljajo bolezenska znamenja okužbe tudi na sadilnem materialu pečkatega sadja. Za potrditev okužbe so bili odvzeti številni vzorci. Laboratorijske analize so potrdile pojav te bakterije na sadikah jablane, zlasti sorte Braeburn. V prispevku so prikazana najpogosteje opažena bolezenska znamenja na sadikah jablane in ukrepi v drevesnici za preprečevanje nadaljnega širjenja okužbe omenjene bakterije.

Ključne besede: *Pseudomonas syringae*, sadne sadike, jablana

ABSTRACT

PROBLEMS WITH BACTERIAL CANKER (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) IN PRODUCTION OF POME FRUIT PROPAGATING MATERIAL

Diseases caused by the bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* are quite common in the nature. Sometimes they appear with well expressed symptoms, especially on various fruit trees. According to the Law of seed material of agricultural crops and the other regulative, this bacterium is listed as a harmful organism which can impact the quality of plants for planting. Plants in trade have to be free from this harmful organism and free from visible symptoms. During regular inspections of propagating material in fruit nurseries phytosanitary inspection noticed that recently signs of this disease have been appearing more frequently on propagating material of pome fruits as well. To confirm the presence of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* as the potential causal agent of mentioned symptoms many samples have been taken. Laboratory tests confirmed its presence in plants of apple trees, most frequently in those of the cultivar Braeburn. In the paper the most distinctive symptom expressions of diseased apple plants and the phytosanitary measures undertaken to prevent the spread of this disease are presented.

Key words: *Pseudomonas syringae*, fruit trees, *Malus domestica*

¹ mag. agr. znan., Opekarniška 2, SI-3000 Celje

² mag. agr. znan., Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica

1 UVOD

Bakterije iz rodu *Pseudomonas* so v naravi precej pogoste. Bakterija *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* lahko živi v vodi in zraku ali kot epifit na listni površini ali na skorji različnih rastlin, ne da bi povzročila obolenje. Ima različne gostiteljske rastline. Ob ugodnih vremenskih razmerah lahko povzroči okužbe s pojavom bolezenskih znamenj, tako na zelenjadnicah kot sadnih in okrasnih rastlinah. Kot navaja literatura se lahko pojavijo različna bolezenska znamenja, njihova pojavnost oblika pa je odvisna od vrste rastlin in dela rastlin, ki so okuženi. Bakterija se lahko zelo hitro razvija v humidnem okolju. Širjenje bakterije je mogoče z okuženim sadilnim materialom (podlage in cepiči), z delovnim orodjem in celo z dežnimi kapljami. (Pscheidt, Ocamb, 2009).

Okužbe z bakterijo *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* so najbolj pogoste na hruškah, prav tako pa lahko zelo pogosto prizadene tudi mlada jablanova drevesa z okužbami na mladih poganjkih. V drevesnicah so pogosto napadeni tudi do pol metra dolgi poganjki. V ekstremnih letih se lahko bolezen pojavi v obliki gnezd in povzroči velike izpade pri pridelavi sadik v drevesnicah (Hasler, Cazelles, 1996).

Bakterija lahko vstopi v rastlino preko naravnih odprtih in ran. Rane so lahko mehanske ali jih povzroči zmrzal oziroma nastajanje ledu v rastlinskem tkivu. Pri tem imajo bakterije *Pseudomonas syringae* pomembno vlogo. Brez teh bakterij se voda ohladi pod temperaturo $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ne da bi zamrznila. Bakterije *Pseudomonas syringae* pa sprožijo zamrzovanje vode in s tem možne poškodbe tkiva pri višjih temperaturah kot je to običajno (med $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ in $0\text{ }^{\circ}\text{C}$). Pri različnih rastlinah so opazili, da je bila pozeba, poleg splošne občutljivosti rastline na zmrzal direktno povezana s koncentracijo takšnih bakterij. Skozi takšne poškodbe bakterije zlahka vstopijo v rastlino (Ravnikar, Dreo, 2006).

Rastline, ki imajo optimalne razmere za rast so dobro odporne na okužbe. Večjo občutljivost za okužbe z bakterijo pa imajo lahko rastline, ki trpijo pomanjkanje posameznih hranil (zlasti elementa bora), imajo nesorazmerno oskrbo s hranili ali so zaradi neugodnih rastnih razmer v stresni situaciji (suša, premokra tla, nizke zimske temperature, ki povzročajo pozebe).

2 MATERIAL IN METODE

Pridelava sadilnega materiala sadnih rastlin je pod nadzorom fitosanitarne inšpekcije standardne kategorije ter pooblaščenih preglednikov pri pridelavi certificiranega materiala. Pri rednih zdravstvenih pregledih, ki se opravljajo najmanj dvakrat letno, se opravi pregled zdravstvenega stanja sadilnega materiala ter preveri izpolnjevanje pogojev iz Pravilnika o ukrepih in postopkih za preprečevanje in širjenje škodljivih organizmov rastlin, rastlinskih proizvodov in nadzorovanih premetov (Ur. l. RS, št. 31/2004, 142/2004, 66/2007), ki je v skladu z Direktivo Sveta 2000/29/ES ter Pravilnika o trženju razmnoževalnega materiala in sadik sadnih rastlin, namenjenih za pridelavo sadja (Ur. l. RS, št. 17/2006), ki pa je v skladu z Direktivo Sveta 92/34/ES ter s seznamom škodljivih organizmov iz priloge Direktive 93/48/ES, kjer je med drugimi škodljivimi organizmi navedena bakterija *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. V Pravilniku je določeno, da je ob pojavu vidnih znamenj tega škodljivega organizma potrebno opraviti takojšnje tretiranje ali uničenje, če tretiranje zaradi narave škodljivega organizma ni učinkovito. Sadilni material, ki gre v promet pa mora biti vsaj na podlagi vizualnega pregleda praktično brez škodljivih organizmov in bolezni, ki lahko vplivajo na njihovo kakovost ali zmanjšajo njihovo uporabno vrednost. To pomeni, da morajo biti sadike v prometu proste vseh vizualnih znamenj navzočnosti bolezni in škodljivcev iz seznama navedenega Pravilnika.

Fitosanitarne inšpekcije je v okviru rednega nadzora pridelave sadilnega materiala standardne kategorije v sadjarstvu z vizualnimi pregledi opazila, da so bili na sadikah posameznih sort jablane ter na podlagah bolezenska znamenja, ki so značilna za bakterijsko okužbo. Bolezenska znamenja so se pojavljala najpogosteje na sorti jablane Braeburn, klon

Maririe Red. Poleg tega so se okužbe pojavile tudi na drugih sortah jablan ter na podlagah MM9 in MM106. Izbruhi bakterijskih okužb so se vedno pojavili po daljšem deževnem obdobju, kateremu je sledilo toplo obdobje. Same okužbe pa so se v drevesnici pojavljale v otokih.

Za potrditev okužbe z bakterijo, smo odvzeli številne vzorce za laboratorijske preiskave. Laboratorijske analize odvzetih vzorcev s sadik jablane, ki jih je opravil Nacionalni inštitut za biologijo v Ljubljani, so potrdile navzočnost bakterije *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Fitosanitarna inšpekcija je pri opravljanju zdravstvenih pregledov sadilnega materiala v drevesnicah najpogosteje opazila naslednja bolezenska znamenja: oranžnorjave kapljice na konicah lističev na rastnem vršičku, suhe konice lističev (kasneje so bili deformirani listni robovi), odmrla očesa, temno rjave lezije s svetlo obrobo na listih, madeži na listih in razbarvane in počrnele listne žile, sušenje vse listne ploskve, uveli, ukrivljeni in posušeni enoletni poganjki, venenje in sušenje celih sadik, slabo obraščanje sadik in majhno število predčasnih poganjkov, pojav mehurjivosti na lubju, spremenjena barva lubja in udrto tkivo z razjedami različnih velikosti, udrto tkivo s spremenjeno barvo na lubju na vstopnem mestu ob očesih ali stranskih poganjkih, znamenja pozebe na lesu. Na podlagah jablane pa so se kazala bolezenska znamenja v obliki mehurjaste povrhnjice na lesu, s spremenjeno barvo lubja in odmiranjem stranskih poganjkov ali celih rastlin.



Slika 1: Značilna rakasta razjeda okoli lanskega očesa (jesenska okužba)



Slika 2: Sušenje okuženega poganjka



Slika 3: Oranžno obarvani lističi na rastnih vršičkih

Število odvzetih vzorcev po letih je prikazano v spodnji preglednici in je bilo odvisno od pojava bolezenskih znamenj v posameznem letu, saj je bilo vzorčenje opravljeno le na sadikah z izraženimi bolezenskimi znamenji, razen v letu 2006, ko je bilo opravljeno tudi vzorčenje cepičev na latentno okužbo. S slednjim testom pa se je potrdil pojav bakterije že v cepičih, ki niso kazali bolezenskih znamenj. Število pozitivnih in negativnih vzorcev je sledilo pojavnosti okužbe in je bilo različno v posameznem letu.

Preglednica 1: Število odvzetih vzorcev zaradi podanega suma in rezultati analiz na bakterijo *Pseudomonas* spp. v letih od 2003-2008.

Rezultat/Leto	2003	2004	2005	2006	2007	2008
POZ. Vzorci	5	11	0	14	12	0
NEG. vzorci	1	3	0	5	1	2
Skupaj vzorcev	6	14	0	19	13	2

Prvi večji pojav bolezn, ki je imela za posledico gospodarsko škodo smo opazili leta 2003 že meseca maja, in sicer le na sadikah ene sorte jablane z izraženimi bolezenskimi znamenji, kot so oranžno rjave kapljice na konicah lističev na rastnem vršičku ter venenje in sušenje mladih poganjkov. V letih 2004 in 2005 so se znamenja okužbe z bakterijo pojavili v jeseni v blažji obliki tako, da ni bila povzročena gospodarska škoda. Leta 2004 so se znamenja okužbe pokazala razpršeno na različnih sortah v obliki sušenja posameznih sadik. V letu 2005 pa so bila opazna znamenja sušenja konic lističev na rastnem vršičku le na sadikah ene sorte. Leta 2008 pa očitnih bolezenskih znakov ni bilo opaziti. Leta 2006 so se prva bolezenska znamenja pojavila že sredi maja le na eni sorti, ko so bile vidne posledice zimske pozebe na lesu in očesih ter slabo odganjanje sadik. Nato pa so se bolezenska znamenja močno pojavila v drugi polovici junija na lesu v obliki mehurjavosti in odmiranja lubja, venenja in sušenja mladih poganjkov, pojav oranžnega bakterijskega izcedka in sušenja konic mladih lističev. Zaradi močnih okužb je veliko sadik propadlo in je nastala tudi večja gospodarska škoda. Okužbe so se pojavile na dveh različnih sortah. V istem letu smo ugotovili, da so se bolezenska znamenja pojavila tudi v rodnih nasadih na sorti, na kateri so se okužbe najpogosteje pojavljale že na sadikah v drevesnici. V posameznih nasadih smo opazili propadanja oz. prizadetost z opisanimi simptomi na 5 - 20% posajenih mladih dreves. V letu 2007 je bil večji pojav bolezenskih znamenj v jeseni v mesecu oktobru, tako na sadikah ene sorte, kot na jablanovih podlagah. Na sadikah so bila opazna znamenja okužbe s posušenimi konicami mladih lističev ter poškodovano lubje. Na podlagah pa so se bolezenska znamenja kazali s pojavom mehurjavosti in odstopanjem povrhnjice na lubju, kar je povzročilo propad podlag.

Pri pregledih smo ugotovili, da so se okužbe pojavile v glavnem na sadilnem materialu standardne kakovosti. Bolezenska znamenja so se najpogosteje pojavila v otokih, običajno na težjih tleh ter v glavnem le na sorti Braeburn, klon Mariric Red, in sicer v različnem deležu glede na izvor vhodnega materiala (cepičev) od 1 do 30%. Višji odstotek okužb so kazale sadike, ki so bile pridelane s cepiči po izvoru iz toplejšega območja. Od podlag se je za zdaj izkazala najbolj občutljiva podlaga M9.

Ob pojavu okužb je Fitosanitarna inšpekcija v drevesnici odredila higienske ukrepe kot so razkuževanje delovnega orodja, globoko izrezovanje okuženih delov in uničevanje okuženih sadik s sežigom. Za preventivo se je izvajalo škropljenje s pripravki, ki zavirajo bujnost rasti ter krepijo celične stene. Za sadike, ki so bile slabo obraščene se je opravila tako imenovana pomladitvena rez (rez na eno oko) in ponovno sajenje v drevesnico. Ta ukrep pa ni upravičil vloženega dela, saj rez ni vzpodbudila bujnejše rasti sadik, da bi sadike lahko nadomestile zaostalost. Okužbe na takih sadikah pa so se v naslednjem letu pojavile na 30% - 50% sadik.

4 SKLEP

Za uspešno sadjarsko pridelavo so pogoj kakovostne sadike, ki morajo ustrezati kakovostnim normam in na sadikah, ki se premeščajo, ne sme biti vsaj vizualnih znamenj škodljivih organizmov iz navedenega Pravilnika. Slabo obraščene sadike je smiselno izločiti iz prometa. Izkušnje s spremljanjem pojava okužb z navedeno bakterijo so pokazale, da je lahko eden izmed vzrokov slabega obraščanja sadik ravno navzočnost bakterije, ki pa v drevesnici ne

pokaže bolezenskih znamenj. Take sadike imajo lahko v sadovnjakih upočasnjeno rast, pojavljajo se bolezenska znamenja sušenja posameznih poganjkov ali celih sadik in zato je potrebno dodatno delo za korekcijsko rez, pri čemer je vprašljiva ekonomičnost novega nasada saj lahko polna rodnost nastopi leto kasneje.

Pri pridelavi sadilnega materiala mora biti namenjeno več pozornosti nabavi zdravega vhodnega materiala (podlage in cepiči). V drevesnicah, kjer se kažejo znamenja navzočnosti bakterijske okužbe, je priporočljivo izvajati fitosanitarne ukrepe z razkuževanjem delovnega orodja, uničevanjem okuženih delov ali celih rastlin. Za preventivno varstvo pa se priporoča uporaba bakrovih pripravkov v času brstenja spomladi in v jeseni ob odpadanju listov. Pri cepljenju se mora obvezno opustiti namakanje cepičev v vodni raztopini, ker se s tem lahko okužba prenese na ves vhodni material. Kot navaja literatura spadajo med preventivne ukrepe tudi ustvarjanje optimalnih rasti razmer brez stresnih situacija (pozebe in mokra tla), uravnovešena prehrana rastlin, vzdrževanje optimalne reakcije tal, kolobarjenje in izbira odpornih sort za pridelavo v humidnem območju. Pogosto opažena znamenja pozebe zgolj na eni sorti sadik dokazujejo, da je bila večina znamenj boleznih povezana z bakterijami *Pseudomonas* spp. in z njimi povezanimi poškodbami zaradi zmrzali, kar je povezano s sortno značilnostjo poznega dozorevanja lesu v jeseni.

5 LITERATURA

- Anonimus, 2004: Pravilnik o ukrepih in postopkih za preprečevanje in širjenje škodljivih organizmov rastlin, rastlinskih proizvodov in nadzorovanih premetov. Ur. l. RS, št. 31/2004, 142/2004, 66/2007.
- Anonimus, 2006: Pravilnik o trženju razmnoževalnega materiala in sadik sadnih rastlin, namenjenih za pridelavo sadja. Ur. l. RS, št. 17/2006.
- Hasler, T., Cazelles, O. Birnenblütenbrand und Bakterienbrand des Apfels. Obst und Weinbau, 132 (6), st. 512.
- Mansvelt, E. L., Hattingh, M. J. 1987. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* associated with apple and pear buds in South Africa. Plant Disease 71: 789-792.
- Pavlič Nikolić E. 2006. Interno poročilo o pojavu okužbe z bakterijo iz rodu *Pseudomonas* sp. v drevesničarski pridelavi ter v rodnih nasadih v letu 2006. Celje. Inšpektorat RS za kmetijstvo, gozdarstvo in hrano, Fitosanitarna inšpekcija Celje (interni vir).
- Pscheidt, J. W., O'camb C. M. (2009): Diseases Caused by *Pseudomonas syringae*; v Plant disease control, http://plant-disease.ippc.orst.edu/articles.cfm?article_id=7; zadnja posodobitev 1. jan. 2009.
- Ravnikar, M., Dreo, T., 2006. Strokovno mnenje o pojavu okužb z bakterijami iz rodu *Pseudomonas* sp. v drevesničarski pridelavi. Nacionalni inštitut za biologijo Ljubljana: 5 str.
- Seljak, G. 2006. Strokovno mnenje glede ukrepov v drevesnici v vezi s pojavom odmiranja poganjkov in ugotovljenimi okužbami z bakterijami iz rodu *Pseudomonas* sp. 2006. Nova Gorica, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica: 3 str.

THE OCCURRENCE OF OLIVE KNOT DISEASE CAUSED BY *Pseudomonas savastanoi* IN THE NORTHWEST REGION OF ISTRIAN PENINSULA

Sara GODENA¹, Ivana DMINIĆ², Edyta ĐERMIĆ³, Anita Silvana ILAK-PERŠURIĆ¹

¹Institute of Agriculture and Tourism, Poreč

²Polytechnic of Rijeka, Department of Agriculture, Poreč

³University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Plant Pathology, Zagreb

ABSTRACT

Olive knot, a disease caused by pathogen bacteria *Pseudomonas savastanoi* is known from the ancient Roman times. Nowadays it is spread in almost all olive production areas and represents the main disease in olive groves. The bacteria stimulates tissue proliferation and abnormal cell division from which tumour formations are formed. With disease development, tumours grow and their number increase which can lead to branch and shoots decline and lower yields. The oil from olives on contaminated olive trees has lower quality. The bacteria penetrates the olive through open wounds from cutting or harvesting as well as through wound caused by hail and strong winds. Considering the incidence of disease occurrence in surroundings of Poreč (northwest Istria, Croatia) during the 2008 our aim was to quantify the presence of olive knot appearance and set possible reasons which have influenced its presence and spreading. The researched area had 140 ha of olive trees in which there were 5 separate research locations with similar ecological and microclimatic circumstances planted with Leccino and Picholine varieties. Frequency and degree of contamination were defined by visual examination of olive's upper parts, and results were shown numerically (on scale). Intensity infestation of olive knot was different on various locations. Variety Leccino showed less susceptibility to infection of bacteria compared to Picholine. Gained results can be used in strategies for decreasing damages caused by this disease.

Key words: Croatia, monitoring, olive knot, olive tree, *Pseudomonas savastanoi*.

IZVLEČEK

POJAV BAKTERIJSKEGA OLJČNEGA RAKA (*Pseudomonas savastanoi*) V SEVEROZAHODNEM DELU ISTRSKEGA POLOTOKA

Oljčni rak, ki ga povzroča patogeni bakterija *Pseudomonas savastanoi* je znan že iz časov starega Rima. Danes je razširjen praktično v vseh območjih, kjer raste oljka in predstavlja najpomembnejšo bolezen na tej rastlini. Bakterija pospešuje rast rastlinskega tkiva in nekontrolirano delitev celic iz katerih se razvijejo novotvorbe, njihovo množenje in rast povzroča propad vej in korenin, kar ima za posledico nižji pridelek. Olje z okuženih rastlin pa ima slabšo kvaliteto. Bakterija prodre v rastlinsko tkivo skozi odprte rane, ki ostanejo od obrezovanja ali od spravljjanja pridelka in skozi rane, ki jih naredi toča ali močan veter. V naši raziskavi, ki smo jo opravili v letu 2008, smo želeli ugotoviti vzroke, ki vplivajo na pojav in razširjanje te bolezni v okolici Poreča (severozahodna Istra, Hrvaška). Območje raziskovanja je skupaj obsegalo 140 ha oljčnih nasadov, ki so bili postavljeni na petih med seboj ločenih

¹ B.Sc., Karla Huguesa 8, HR-52440 Poreč, Croatia.

¹ Ph. D., ibid.

² B. Sc., Karla Huguesa 6, HR-52440 Poreč, Croatia.

³ Ph. D., Svetošimunska 25, HR-10000 Zagreb, Croatia.

lokacijah s podobnimi ekološkimi in mikroklimatskimi pogoji. V poskus sta bili vključeni 2 sorti: Leccino in Picholine. Okužbe na oljkah, ki smo jih ugotavljali vizualno s pregledovanjem zgornjih delov dreves, smo prikazali v številčni skali. Intenzivnost okužbe z oljčnim rakom se je med lokacijami razlikovala. Sorta Leccino se je pokazala kot bolj občutljiva v primerjavi s sorto Picholine. Dobljeni rezultati bodo uporabljeni v strategiji zatiranja proti tej bolezni.

Ključne besede: Hrvaška, monitoring, oljčni rak, oljka, *Pseudomonas savastanoi*, simptomi.

1 INTRODUCTION

Pseudomonas savastanoi is a motile, gram-negative bacterium with 1-4 polar flagella with dimensions of 0,4-0,8 μm x 1,2-2,3 μm (Civanos López-Villalta, 1999). The bacterium lives as an epiphyte on healthy leaves and when weather conditions are optimal (22-25°C and over 80% relative humidity) it may become a source of infection (Škarica *et al.*, 1996, Civantos López-Villalta, 1999, Lavermicocca *et al.*, 2002). It is the causal agent of olive knot disease, a bacterial disease that affects olive trees mainly in Mediterranean countries, where climatic conditions often favour spread of the disease (Penyalver *et al.*, 2006). The minimal temperatures of 18-22°C are essential for the onset of the disease (Iannotta *et al.*, 2007). Tissues can be infected through leaf scars (after the leaves fall), wounds and fissures on stem and twigs caused by meteorological phenomena (hail and frost) and insect miners, as well as by harvest and pruning practices. Symptoms are characterized by tumorous outgrowths on different parts of infected plants, mainly shoots and branches. The galls are initially small protuberances or swellings. They are growing quickly and turn into smooth, soft, spherical “knots” (3-5 mm in diameter) that are soft and covered with greenish bark (Fig. 1.).



Figure 1: Knots on branches of olive (young greenish galls - left and bigger knots - on the right side of the figure) (Photo: I. Dminić).

The development of these galls is dependent on bacterial production of the phytohormone indole-3-acetic (IAA) acid and cytokinins (Penyalver *et al.*, 2006). Olive knot disease is considered as an important problem for olive crops because of its effect on vegetative growth, olive yield and even possibly on olive oil quality like inferior organoleptic characteristics (Civanos López-Villalta, 1999).

Some studies have found that different olive genotypes have different degrees of susceptibility to bacterium *P. savastanoi*. Žužić *et al.*, (1987) mention that the variety Leccino is resistant to olive knot. Iannotta *et al.* (2007) conducted a research on numerous Italian and non-Italian varieties and they showed different sensitivity to infection. In this way, cultivar Leccino showed 30%, unlike cultivar Picholine, which gained 70,83% of infection. The use of tolerant or resistant varieties is considered one of the most appropriate methods of control at this moment, because the peak of the disease depends on variety susceptibility (Civantos López-Villalta, 1999).

2 MATERIALS AND METHODS

Our aim was to quantify the presence of olive knot symptoms and set possible reasons which have influenced its presence and spreading.

The investigation was carried out on November 2008 in surroundings of Poreč (northwest Istria, Croatia), in the olive grove on the location Červar. The researched area had 140 ha of olive trees in which we chose 5 separate research locations, of about 900 m² each, where 10 trees per site (50 trees or 4500 m² in total) were examined. The research locations were planted by two olive varieties: Italian variety Leccino and French variety Picholine. The pruning was manual, while the harvest was performed both, manually and mechanically. The climatic factors were measured during 2007 and 2008 at the meteorological station Poreč. The medium annual temperature in 2007 was 14,5°C and the total annual precipitations were 813,5 mm, while the medium annual temperature in 2008 was 14,4°C and the total annual precipitations were 840 mm. Details (varieties, age, etc.) about different research locations are presented in the Table 1.

Table 1. Data about the researched localities.

Research location	Distance in and between the rows (m)	Variety	Irrigation	Plant age (years)
1	6x6	Leccino	-	20-30
2	6x6	Leccino	-	20-30
3	5x5	Leccino	-	20-30
4	4x5	Picholine	+	10-15
5	4x5	Leccino	+	20-30

The presence of the disease was estimated on the basis of the quantity of tubercles present on branches. Frequency and degree of contamination were defined by visual examination of upper parts of the olive trees, using the scale that was based on four categories according to Iannotta *et al.* (2007). If knots were present on less than 20% of branches, frequency of the disease incidence was marked as 1. Consequently, if knots were present on 21-50 % of branches it was marked as 2; 51-70% branches as 3 and 71-100% as 4.

3 RESULTS AND DISCUSSION

Based on the research that was conducted in November 2008, we found olive knot symptoms, presumably caused by bacterium *Pseudomonas savastanoi*, on olive trees at all 5 locations (Fig. 1).

Our results showed a different situation among two various cultivar (Leccino and Picholine). The frequency of olive knot symptoms based on visual evaluation of the upper parts of olives was from 5 to 90%. According to the scale of Iannotta *et al.*, 2007, all of four categories were found. The Picholine variety had higher percentage of infection than Leccino variety. The

percentage of infection of Picholine was on average 73% (category of infection 4). The percentage of infected plant parts of Leccino on the research location 1 was on average 42,5% (category of infection 2).

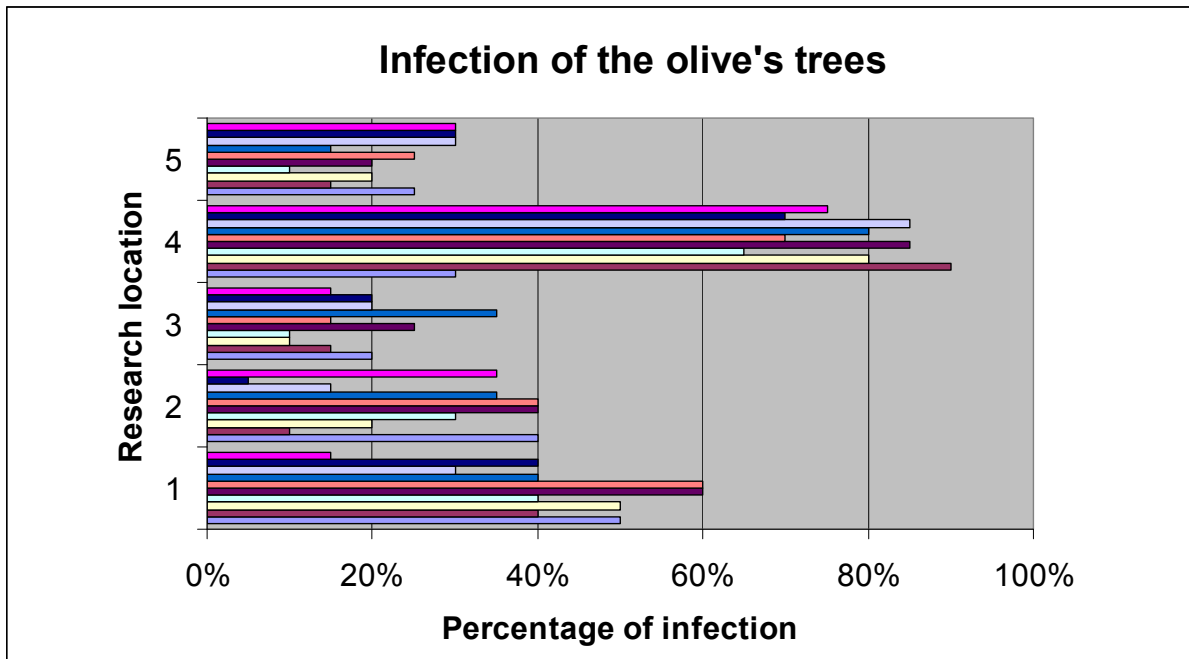


Figure 1. Presence of olive knots in different research locations in 2008.



Figure 2. Olive twigs covered by knots, presumably caused by bacterium *Pseudomonas savastanoi* (Photo: I. Dminić).



Figure 3. Olive trunk with knot symptoms (Photo: I. Dminić).

On the locations 2 and 5 the percentage was on average 27% and 22% (category of infection 2), while on the third location the frequency of the knot symptom was on average only 18,5% (category of infection 1). Based on climatic conditions and agrotechnical measures that have

prevailed in 2007 and 2008, especially the way how the pruning and the harvest were implemented, one can speculate that spread of olive knot disease were severely impacted.

4 CONCLUSIONS

Based on results of our survey we can conclude that a rather high frequency of olive knot symptoms was determined at all five investigated locations in 2008. The intensity of infection rate based on visual evaluation of the upper parts of olives was from 5 up to 90%.

The higher frequency of knot symptoms was found on variety Picholine. Determined level of infection was on average 73% (category of infection 4). Determined average frequency of knot symptom on variety Leccino varied from 18,5% (category of infection 1) to 42,5% (category of infection 2). In the climatic conditions of Poreč location, olive knot symptoms arise rapidly. The selection of varieties and locations, as well as agrotechnical measures and climate conditions, can affect the abundance of olive knot symptom.

This survey was first effort in monitoring of the present status of the olive knot disease in the northwest region of Istrian peninsula. Next steps should be determining the causative agent of the knot symptom, presumably *Pseudomonas savastanoi*. In the field, in order to reduce the damage, it is necessary to regularly monitor the emergence and intensity of the disease and to implement all available control measures.

5 REFERENCES

- Civantos López-Villalta, M. 1999. Olive Pest and Disease Management. International Olive Oil Council, Madrid.
- Iannotta, N., Monardo, D., Noce, M. E., Perri, L. 2007. Susceptibility of olive genotypes to *pseudomonas savastanoi* (Smith). Proceedings of the meeting, Working Group "Intergated Protection of Olive Crops", Florence, Italy, 2005. IOBC/wprs Bull., 2007, 30(9): 253-258.
- Lavermicocca, P., Lonigro, S. L., Valerio, F., Evidente, A., Visconti, A. 2002. Reduction of Olive Knot Disease by a Bacteriocin from *Pseudomonas syringae* pv. *ciccaronei*. Applied and Environmental Microbiology, 68, 3: 1403-1407.
- Penyalver, R., García, A., Ferrer, A., Bertolini, E., Quesada, J. M., Salcedo, C. I., Piquer, J., Pérez-Panadés, J., Carbonell, E. A., del Río, C., Caballero, J. M., López, M. M. 2006. Factors Affecting *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* Plant Inoculations and Their Use for Evaluation of Olive Cultivar Susceptibility. Phytopathology, 96: 313-319.
- Škarica, B., Žužić, I., Bonifačić, M. 1996. Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj. Tipograf d.d., Rijeka.
- Žužić, I., Ciglar, I. 1987. Usmjerena i integrirana zaštita masline. A. G. Matoš, Samobor.

FITOTOKSIČNOST RAZLIČNIH HERBICIDOV NA DOMAČ GENSKI MATERIAL KORUZE IN NJIHOVA UČINKOVITOST

Tina MODIC¹, Ludvik ROZMAN²

¹Bayer d.o.o., Bayer CropScience, Ljubljana

²Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

IZVLEČEK

Poleg učinkovitega delovanja herbicidov z različnimi aktivnimi snovmi je zelo pomembno, da ne povzročajo fitotoksičnosti na gojenih rastlinah, v katerih jih uporabljamo. Fitotoksičnost herbicida in posamezne aktivne snovi na določeno gojeno rastlino preverijo že proizvajalci sami pred registracijo herbicida, vendar v žlahtnjenju rastlin uporabljamo različen genski material, pogosto še posebej občutljive homozigotne linije in smo zato zelo omejeni v varstvu pred pleveli. Namen raziskave je preučiti fitotoksičnost herbicidov na domač genski material koruze ter učinkovitost delovanja herbicidov z različnimi aktivnimi snovmi. V poljski poskus je bilo v letu 2008 vključenih 53 linij in 53 populacij koruze iz genske banke na Biotehniški fakulteti v Ljubljani ter 19 standardov/hibridov z Opisne sortne liste za koruzo R Slovenije. Uporabili smo 6 herbicidov z različnimi aktivnimi snovmi in sicer: H1 (izoksaflutol 75%), H2 (mezotrion 3,75%, S-metolaklor 37,5%, terbutilazin 12,5%), H3 (foramsulfuron 3%, jodosulfuron-metil natrij 1%), H4 (nikosulfuron 4%), H5 (glufosinat-amonijeva sol 15%) in H6 (glifosat v obliki izopropilamin soli 48 %). Odmerek vsakega herbicida smo uporabili v dveh variantah, 1) v priporočenem – registriranem odmerku ter 2) v podvojenem odmerku. Že na osnovi preliminarnih rezultatov smo ugotovili različno učinkovitost zatiranja plevelov glede na aktivne substance herbicidov ter veliko genetsko variabilnost domačega genskega materiala koruze glede fitotoksičnosti, ki se je izražala predvsem v različnih klorozah. Nekateri genotipi nakazujejo tudi delno tolerantnost na neselektivna herbicida glufosinat-amonij in glifosat, kar bo potrebno z nadaljnjimi raziskavami še potrditi.

Ključne besede: fitotoksičnost, genska banka, kloroze, koruza, učinkovitost herbicidov.

ABSTRACT

PHYTOTOXICITY OF SOME HERBICIDES TO DOMESTIC MAIZE GENE MATERIAL AND THEIR EFFICACY

It is very important that beside good efficacy herbicides with different active substances show also no phytotoxicity to cultivated plants. This characteristic is primarily checked before registration of certain herbicide, but in plant breeding we often operate with very sensitive breeding material, like homozygote lines and therefore we are very limited in weed management. The main objective of this research is to investigate phytotoxicity of some herbicides to domestic maize gene material and their efficacy. In the field trial, conducted in 2008, the 53 maize inbreds and 53 maize populations obtained from gene bank of Biotechnical faculty in Ljubljana and 19 hybrids as standard, were included. For weed management we used 6 herbicides with different substances: H1 (isoxaflutole 3 %), H2 (S-metolachlor 37,5 %, terbutilazine 12,5 %, mesotrione 3,75), H3 (foramsulfuron 3%,

¹ univ. dipl. inž. agr., Bravničarjeva 13, SI-1000 Ljubljana

² doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

iodosulfuron-methyl-sodium 1%), H4 (nicosulfuron 4 %), H5 (glufosinate-ammonium 15%) and H6 (glyphosate 48 %). For application 2 variants were used: 1st) registered dose and 2nd) double dose of each herbicide. Already preliminary tests showed different activity on present weeds and quite genetic variability of domestic maize gene material regarding to phytotoxicity which was shown in different necrosis. Some of genotypes showed certain tolerance also to non-selective herbicides glufosinate-ammonium and glyphosate, which needs to be confirmed in further investigations.

Key words: gene bank, herbicide efficacy, maize, necrosis, phytotoxicity.

1 UVOD

Poleg učinkovitega delovanja herbicidov z različnimi aktivnimi snovmi je zelo pomembno, da ne povzročajo fitotoksičnosti na gojenih rastlinah. Na učinkovitost in fitotoksičnost različnih aktivnih substanc na linije koruze močno vplivajo tudi vremenske razmere (Stefanović in sod., 1997). Za herbicide na osnovi derivatov sulfonilsečnine, ki jih uporabljamo po vzniku koruze, so dokazani določeni fitotoksični učinki na nekaterih linijah koruze (Subramanyan in sod., 2007; Pataky in sod., 2006; Triantafyllidis in sod., 2006; Soukup in sod., 2004; Green in Ulrich, 1993), zato je v semenski pridelavi uporaba le-teh omejena. Fitotoksičnost herbicida in posamezne aktivne snovi na določeno gojeno rastlino preverijo že proizvajalci sami pred registracijo herbicida, vendar v žlahtnjenju rastlin uporabljamo specifičen genski material, pogosto še posebej občutljive homozigotne linije in smo zato zelo omejeni pri zatiranju plevelov.

Namen raziskave je preučiti fitotoksičnost herbicidov z različnimi aktivnimi snovmi na domač genski material koruze ter učinkovitost njihovega delovanja na plevela.

2 MATERIAL IN METODE

V poljski poskus v Jablah je bilo v letu 2008 vključeno 53 linij in 53 populacij koruze iz genske banke na Biotehniški fakulteti v Ljubljani (Rozman, 1998) ter 19 hibridov z Opisne sortne liste za koruzo (MKGP, 2007), ki jih Sortna komisija R Slovenije uporablja kot standarde.

Vsi genotipi, vključeni v poskus, so bili, poleg kontrole tretirani s šestimi različnimi herbicidi: H1 (izoksafutol 75%), H2 (mezotrion 3,75%, S-metolaklor 37,5%, terbutilazin 12,5%), H3 (foramsulfuron 3%, jodosulfuron-metil natrij 1%), H4 (nikosulfuron 4%), H5 (glufosinat-amonijeva sol 15%) in H6 (glifosat v obliki izopropilamin soli 48 %). Odmerki vsakega herbicida smo uporabili v dveh variantah: v priporočenem – registriranem odmerku (O1) in v podvojenem odmerku (O2).

Setev smo opravili 3. maja 2008, tretiranja s posameznimi herbicidi pa v dveh terminih, pred vznikom koruze, 9. maja 2008 (H1 in H2) in po vzniku koruze, 29. maja 2008, v fenofazi koruze 4 listov (H3, H4, H5 in H6).

Pojavnost plevelov smo ocenili le vizualno in sicer pred tretiranjem s herbicidi po vzniku koruze, 29. maja 2009 in po tretiranju s H1, H2, H3, H4, H5 in H6, 3. junija 2009.

V dveh ocenjevanjih smo vizualno ocenili število genotipov z znamenji fitotoksičnosti, prvič 10. junija 2008 in drugič 3. julija 2008. Za ocenjevanje smo uporabili skalo, ki jo priporoča EPPO (Anon., 2007).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Pri herbicidih, ki smo jih uporabili pred vznikom (H1 in H2), po tretiranju s priporočenim odmerkom nismo opazili znamenj fitotoksičnosti pri nobenem ocenjevanju (Pregl. 1).

Pri dvojnem odmerku je bilo med drugim opaziti znamenja fitotoksičnosti po tretiranju s H1 pri 10 linijah v prvem ocenjevanju, 5 od njih ni kazalo več teh znakov pri drugem

ocenjevanju, 2 liniji pa sta po prvem ocenjevanju popolnoma propadli. Pokazale so se močne kloroze na listih in pobeljene rastline pri prvem ocenjevanju. Znamenja fitotoksičnosti so se izražala še kot iznakažene rastline, zaostale v rasti. Pri tretiranju s H1 in H2 z dvojnimi odmerki smo opazili znake fitotoksičnosti pri 2 standardih, ki jih pri drugem ocenjevanju ni bilo več opaziti.

Preglednica 1: Število genotipov z znamenji fitotoksičnosti herbicidov, uporabljenih pred vznikom koruze (H1 in H2).

Skupno število preučevanih genotipov	O1H1	O1H2	O2H1		O2H2	
	1. in 2. oc.	1. in 2. oc.	1. oc.	2. oc.	1. oc.	2. oc.
53 linij	0	0	10 (2+, 5↑)	6 (3*)	10 (10↑)	2
53 populacij	0	0	0	2	1	3
19 standardov	0	0	2 (2↑)	0	2	0

+ genotip povsem propadel;

↑ genotip ob drugem ocenjevanju ni imel znamenj fitotoksičnosti;

* genotipi z znamenji fitotoksičnosti samo ob drugem ocenjevanju.

Pri herbicidih, uporabljenih po vzniku, smo opazili znamenja fitotoksičnosti pri večjem številu genotipov po tretiranju s H3 kot s H4 (Pregl. 2). V obeh tretiranjih s H3 in H4 nekaj genotipov ni več kazalo znamenj fitotoksičnosti ob drugem ocenjevanju, pri H3 pa so se znamenja fitotoksičnosti pri nekaterih genotipih ob drugem ocenjevanju pojavili na novo. Večje število genotipov z znamenji fitotoksičnosti smo po pričakovanju zaznali pri dvojnem odmerku herbicida. V enojnem odmerku pri tretiranju s H3 in H4 ni kazal znamenj fitotoksičnosti nobeden od standardov, medtem ko smo pri dvojnem odmerku opazili znamenja fitotoksičnosti tudi pri standardih.

Fitotoksičnost se je izražala podobno kot po tretiranju v dvojnem odmerku s H1 in H2 in sicer v obliki kloroz različne jakosti, krep listov, drobnih – nižjih rastlin, iznakaženih metlic, suličastih listov, zvitih – iznakaženih listov in popolnoma iznakaženih rastlin, ki se kasneje bodisi niso normalno razvile ali pa so popolnoma propadle.

Preglednica 2: Število genotipov z znamenji fitotoksičnosti herbicidov, uporabljenih po vzniku koruze (H3 in H4).

Skupno število preučevanih genotipov	O1H3		O2H3		O1H4		O2H4	
	1. oc.	2. oc.	1. oc.	2. oc.	1. oc.	2. oc.	1. oc.	2. oc.
53 linij	6	11	24 (9 ↑)	20 (5*)	5 (2 ↑)	3	23 (16 ↑)	7
53 populacij	1	2	6 (4 ↑)	10 (8*)	1	0	3	2
19 standardov	0	0	4 (1 ↑)	2 (1*)	0	0	5	0

+ genotip povsem propadel;

↑ genotip ob drugem ocenjevanju ni imel znamenj fitotoksičnosti;

* genotipi z znamenji fitotoksičnosti samo ob drugem ocenjevanju.

Učinkovitost herbicidov se je izkazala v skladu z navodili proizvajalcev. Pri vseh izmed uporabljenih selektivnih herbicidov smo opazili pomanjkljivosti pri uspešnem zatiranju vsaj enega izmed pomembnih plevelov v poskusu (npr. njivskega slaka) (Pregl. 3 in 4), zato je za uspešno zatiranje plevelov potrebno uporabiti kombinacijo več selektivnih herbicidov, ki se dopolnjujejo v učinkovitosti delovanja.

Preglednica 3: Zastopanost plevelov pred tretiranjem s herbicidi po vzniku, 29. maja 2009.

Odstotek pokritosti s plevelom/ /zapleveljenosti	Plevel
20 %	njivski slak (<i>Convolvulus arvensis</i>)
20 %	srhkodlakavi ščir (<i>Amaranthus retroflexus</i>)
20 %	močvirnati čišljak (<i>Stachys palustris</i>)
7 %	navadna kostreba (<i>Echinochloa crus-galli</i>)
7 %	njivska preslica (<i>Equisetum arvense</i>)
5 %	mnogosemenska metlika (<i>Chenopodium polyspermum</i>)
5 %	gozdna potočarka (<i>Rorippa sylvestris</i>)
6 %	ščavje (<i>Rumex</i> spp.)
4 %	navadni gabez (<i>Symphytum officinale</i>)
4 %	lapuh (<i>Tussilago farfara</i>)
skupaj 2 %	ločje (<i>Juncus</i> spp.), deljenolistni mrkač (<i>Bidens tripartitus</i>), njivska vijolica (<i>Viola arvensis</i>), ptičja dresen (<i>Polygonum aviculare</i>), inkarnatka (<i>Trifolium incarnatum</i>), breskova dresen (<i>Polygonum persicaria</i>), osat (<i>Cirsium arvense</i>), njivsko grabljišče (<i>Knautia arvensis</i>), prava kamilica (<i>Matricaria chamomilla</i>), zeleni muhvič (<i>Setaria viridis</i>), ljuljka (<i>Lolium</i> spp.), ...

Preglednica 4: Zastopanost plevelov 3. junija 2009 v herbicidnih pasovih H1, H2, H5 in H6 in 3. julija 2009 v herbicidnih pasovih H3 in H4.

Kombinacija	Prisotni pleveli
O1H1	njivski slak, navadna kostreba, ločje, zeleni muhvič, gozdna potočarka, njivska preslica, ljuljka
O2H1	njivska preslica, njivski slak, navadna kostreba
O1H2	njivski slak, njivska preslica, ljuljka, ščavje
O2H2	njivski slak, njivska preslica
O1H3	njivska preslica, njivski slak
O2H3	njivska preslica
O1H4	njivska preslica, njivski slak, mnogosemenska metlika, njivska vijolica, srhkodlakavi ščir
O2H4	njivska preslica, mnogosemenska metlika, njivska vijolica, srhkodlakavi ščir
O1H5	nič zapleveljeno
O2H5	nič zapleveljeno
O1H6	njivska preslica
O2H6	njivska preslica

4 SKLEPI

Že na osnovi preliminarnih rezultatov smo ugotovili različno učinkovitost zatiranja plevelov glede na aktivne substance herbicidov. Za uspešno varstvo pred pleveli bi bilo potrebno uporabiti kombinacijo več selektivnih herbicidov. Glede fitotoksičnosti, smo opazili veliko genetsko variabilnost domačega genskega materiala koruze. Občutljivost proučevanega genskega materiala se je izražala predvsem v klorozah različne intenzivnosti, s krep listi, v drobnih – nižjih rastlinah, iznakaženih metlicah, suličastih listih, zvutih – iznakaženih listih in celo v popolnoma deformiranih rastlinah. Nekateri genotipi nakazujejo tudi delno tolerantnost na neselektivna herbicida glufosinat-amonij in glifosat, kar bo potrebno z nadaljnjimi raziskavami še podrobneje proučiti.

5 LITERATURA

Anon. 2007. Phytotoxicity assessment. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. Blackwell Publishing, Oxford, UK, 37: 1, 4-10.

- Green, J.M., Ulrich, J.F. 1993. Response of corn (*Zea mays* L.) inbreds and hybrids to sulfonylurea herbicides. *Weed Sci.*, 41: 508-516.
- MKGP. Fitosanitarna uprava R Slovenije, Kmetijski inštitut Slovenije. 2007. Opisna sortna lista RS za koruzo.
- Pataky, J.K., Nordby, J.N., Williams II, M.M., Riechers, D.E. 2006. Inheritance of cross-sensitivity in sweet corn to herbicides applied postemergence. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 131(6): 744-751.
- Rozman, L. 1998. Genska banka koruze. *Sodobno kmetijstvo*, 30, 4: 155-158.
- Soukup, J., Jursik, M., Hamouz, P., Holec, J., Krupka, J. 2004. Influence of soil pH, rainfall, dosage, and application timing of herbicide Merlin 750 WG (isoxaflutole) on phytotoxicity level in maize (*Zea mays* L.). *Plant, Soil and Environment*, 50: 2, 88-94.
- Stefanović, L., Zarić, Lj., Kerečki, B. 1997. Delovanje herbicida na samooplodne linije kukuruza u zavisnosti od meteoroloških uslova godine. *Acta herbol.*, 6: 1, 31-37.
- Subramanyam, D., Reddy, P.M., Sagar, G.K. 2007. A study on herbicide phytotoxicity in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Research ANGRAU*, 35: 2, 75-77.
- Triantafyllidis, V., Bilalis, D.J., Hela, D., Dimopoulos, P., Albanis, T., Efthimiadou, A. 2006. Combination effect of soil slope and rimsulfuron action on weed flora and phytotoxicity on maize crop under Mediterranean conditions. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 4: 3/4, 167-170.

PLANT INVADERS AS ARTIFICIAL AND NATURAL HOSTS OF ECONOMICALLY IMPORTANT VIRUSES

Gabriella KAZINCZI¹, József HORVÁTH², András TAKÁCS³

¹Kaposvár University, Department of Botany and Plant Production, Kaposvar, Hungary

²University of Pannonia, Institute for Plant Protection, Keszthely, Hungary

ABSTRACT

We investigated the role of some invasive species (*Abutilon theophrasti*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Asclepias syriaca*, *Cyperus esculentus*, *Phytolacca americana*, *Solidago gigantea*) in the epidemiology of plant viruses. Natural virus infestations have been monitored for more years. Mechanical inoculations and vector transmission studies were also carried out. Even in the last years, a lot of new weed-virus relations have been identified. At low percent (1-2 %) of the collected symptomless samples of *A. artemisiifolia*, *Cucumber mosaic virus* (CMV) and *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) were detected. *A. syriaca* and *C. esculentus* as natural hosts of four viruses and *Brome streak mosaic virus* (BrSMV) became known, respectively. *Melandrium yellow fleck virus* (MYFV) and RS strain of CMV infested *P. americana* under glasshouse conditions during mechanical inoculations. Neither virological surveys under field conditions nor inoculations in the glasshouse showed *A. theophrasti* as host of plant viruses. Chlorotic ringspot symptoms on *S. gigantea* leaves suggested the presence of virus(es), which were not yet identified.

Key words: plant viruses, invasive weed species, host-virus relations

1 INTRODUCTION

Out of 2400 plant species of the Hungarian flora 71 ones are considered as invasive alien species (Mihály and Botta-Dukát, 2004). Most plant invaders are dangerous to ecological balance of biotic communities, nature conservation areas, to our rare and protected plant species and biological diversity. They can cause human health problems (e.g. pollen allergy of *Ambrosia artemisiifolia* and *Iva xanthiifolia*) and considerably reduce crop yields (Kazinczi *et al.*, 2008). Their indirect harmful effect as alternative hosts of plant pests and pathogens may also be also important (Kazinczi, 2003). In this study we investigated the role of some invasive species (*Abutilon theophrasti*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Asclepias syriaca*, *Cyperus esculentus*, *Phytolacca americana*, *Solidago gigantea*) in the epidemiology of plant viruses.

2 MATERIALS AND METHODS

Under glasshouse conditions (free from virus vectors) *A. theophrasti*, *A. artemisiifolia*, *A. syriaca*, *P. americana* and *S. gigantea* plants at 4-6 leaf stages were mechanically inoculated with 11 viruses (C/U₁ strain of *Tobacco mosaic virus*, TMV-C/U₁; *Obuda pepper virus*, ObPV; NTN strain of *Potato virus Y*, PVY^{NTN}; RS-strain of *Cucumber mosaic virus*, CMV-RS; U/246 strain of CMV, CMV-U/246; *Melandrium yellow fleck virus*, MYFV; *Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV; *Sowbane mosaic virus*, SoMV; *Alfalfa mosaic virus*, AMV; *Tomato spotted wilt virus*, TSWV; *Pepino mosaic virus*, PepMV; *Turnip yellow mosaic virus*, TYMV). Previously viruses were maintained on their propagative hosts. The reaction of inoculated plants were checked symptomatologically, by DAS ELISA serological method and back inoculation.

¹ Ph.D., Kaposvár, Hungary; e-mail: kazinczi.gabriella@ke.hu

² Acad., Ph. D., Keszthely, Hungary

³ Ph.D., *ibid.*

Between 2006 and 2008 symptomless plants and those ones showing virus symptoms were collected from different parts of Hungary from waste lands and agro-ecosystems. Virus infection of the collected samples was checked by biotest (Horváth, 1983), DAS ELISA (Clark and Adams, 1977) and immunosorbent electronmicroscopical methods (Milne and Lesemann, 1984).

Thrips tabaci adults and larvae from TSWV infected *Nicotiana tabacum* were transferred to *A. artemisiifolia*. After two days feeding period *Ambrosia* plants were sprayed with deltamethrin and kept in the vector free glasshouse until assessment. 30 days after spraying the plants were checked by DAS ELISA for TSWV infection.

3 RESULTS AND DISCUSSIONS

Mechanical inoculation of invasive plants was successful only in case of *P. americana*. CMV-RS gave only systemic symptoms on *P. americana* with strong leaf deformation and blistering on the young, upper leaves (Figure 1.). Both local and systemic symptoms were observed due to MYFV infection (Figure 2.). Other plant species studied showed no symptoms. Serological tests and back inoculations were also unsuccessful.

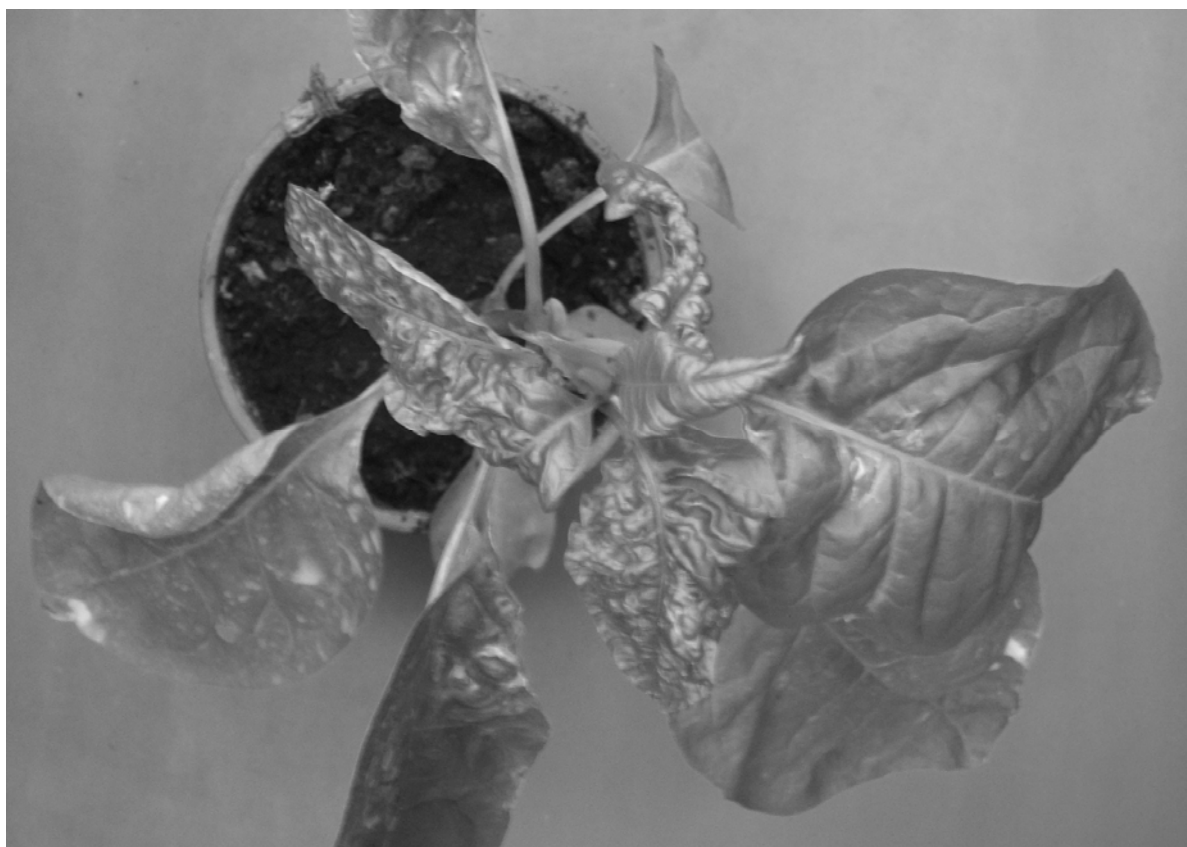


Figure 1: Systemic symptoms on *P. americana* due to CMV-RS infection

During field surveys, at low percent (1-2 %) of the collected symptomless samples of *A. artemisiifolia*, CMV and TSWV were detected. This was also confirmed by vector transmission studies. Our results confirmed that *A. syriaca* is natural host of TMV, TSWV, AMV and CMV (Kazinczi *et al.*, 2002; 2004).

C. esculentus as natural hosts of BrSMV was detected at first time. Infested plants showed no virus symptoms but BrSMV was detected by DAS ELISA test. *C. esculentus* was detected for the first time in Hungary in maize fields in 1993 (Dancza, 1994). It causes damages mainly in

maize, beside this in vegetables and intensive apple orchards (Dancza, *et al.*, 2004). Formerly virus susceptibility of *C. esculentus* was not known in the literature, but other monocot weeds (e.g. *Elymus repens*, *Bromus* spp., *Sorghum* spp.) play important role in the epidemiology of cereal viruses.



Figure 2. Local necrosis (left) and systemic mild systemic mosaic symptoms (right) on *P. americana* leaves due to MYFV infection

Neither virological surveys under field conditions nor inoculations in the glasshouse showed *A. theophrasti* as host of plant viruses. Chlorotic ringspot symptoms on *S. gigantea* leaves suggested the presence of virus(es), which were not yet identified.

4 CONCLUSIONS

More weed-host – virus relations were detected during field surveys as compared to those ones due to mechanical inoculations. It is possible that the high inhibitor content of the leaf tissues inhibits successful virus transmission, while it is not important during vector transmissions under field conditions. Subspecific taxa of both viruses and plants can also greatly modify the results of virus transmissions (Horváth, 1986).

In spite the fact that viruses did not cause considerable biological decline of invasive weeds, we can conclude that invasive plant species play important role as infection sources and reservoirs of economically important viruses. Nevertheless future examinations are necessary to study the role of invasive species in the epidemiology of plant viruses.

5 ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by courtesy of Hungarian National Research Found (OTKA No. T049093).

6 LITERATURE

- Clark, M.F., Adams, A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34, 475-483.
- Dancza, I. 1994. The occurrence of yellow nutsedge (*Cyperus esculentus*) near Keszthely and Hévíz. *Növényvédelem* 30, 475-476.
- Dancza, I., Pathy-Hoffmann, Zs., Doma, Cs. 2004. *Cyperus esculentus* L. (yellow nutsedge) – a new weed in Hungary. *Z. Pflkrankh. PflSchutz, Sonderh.* 19, 223-229.
- Horváth, J. 1983. New artificial hosts and non-hosts of plant viruses and their role in the identification and separation of plant viruses. XVIII: Concluding remarks. *Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung.* 18, 121-161.
- Horváth, J. 1986. New data about virus susceptibility of plants. 5. *Chenopodiaceae (Chenopodium)* species. *Bot. Közlem.* 73, 229-242.
- Kazinczi G., Horváth J., Lesemann, D.E. 2002. Perennial plants as new natural hosts of three viruses. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 109, 301-310
- Kazinczi, G. 2003. Alternative hosts of viruses: weeds. DSc thesis, Keszthely, Hungary.
- Kazinczi, G., Horváth, J., Takács, A., Gáborjányi, R., Béres, I. 2004. Experimental and natural weed host-virus relations. *Comm. Appl. Biol. Sci.* 69 (3), 53-60.
- Kazinczi G., Béres I., Novák R., Bíró K., Pathy Zs. 2008. Common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*): a review with special regards to the results in Hungary. I. Taxonomy, origin and distribution, morphology, life cycle and reproduction strategy. *Herbologia* 9, 55-92
- Mihály, B., Botta-Dukát, Z. 2004. *Özönnövények (Plant invaders)*. Természetbúvár Alapítvány Kiadó, Budapest.
- Milne, R.G., Lesemann, D.E. 1984. Immunosorbent electron microscopy in plant virus studies. In: Maramorosch, K., Koprowski, H. (eds.), *Methods in Virology*. Vol. VIII. Academic Press, London.

UGOTOVLJENI NOVI ŠKODLJIVI ORGANIZMI V LETU 2008 PRI PREMEŠČANJU RASTLIN IZ DRŽAV ČLANIC EVROPSKE UNIJE ALI MED PRIDELAVO V SLOVENIJI

Anita BENKO BELOGLAVEC¹, Radovan LIČEN², Gabrijel SELJAK³, Katja ŠNAJDER
KOSI⁴, Zdenko GRANDO⁵, Mojca LEŠNIK⁶, Ema PAVLIČ NIKOLIČ⁷

^{1,2,4,5,6,7}Ministrstvo za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano, Inšpektorat RS za kmetijstvo,
gozdarstvo in hrano, Fitosanitarna inšpekcija
³KGZS, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica

IZVLEČEK

Fitosanitarna inšpekcija izvaja redni zdravstveni nadzor rastlin, rastlinskih proizvodov in nadzorovanih predmetov, ki so prepoznani kot prenašalci nevarnih škodljivih organizmov in so uvrščeni v sezname Direktive Sveta 2000/29/EC (UL L 169, 10.07.2000) ali v odločbe Evropske Komisije o nujnih ukrepih. V času zdravstvenih pregledov nadzorovanih rastlin fitosanitarna inšpektorji preverjajo tudi druge rastline, ki bi lahko bile gostiteljice novih škodljivih organizmov, na primer iz opozorilnega seznama ("Alert list") Evropske in mediteranske organizacije za varstvo rastlin (EPPO). Nadzor poteka na mestih, kjer se rastline, rastlinski proizvodi ali nadzorovani predmeti premeščajo, pridelujejo, predelujejo, skladiščijo, prodajajo ali drugače uporabljajo, kot tudi v prostorih kupcev in pri vnosu iz tretjih držav, izvozu ter tranzitu. V okviru rednega zdravstvenega nadzora rastlin so bili v letu 2008 prvič v Sloveniji ugotovljeni nekateri škodljivi organizmi rastlin, ki so uvrščeni na seznam II.A.II Direktive Sveta 2000/29/EC (in seznam A2 EPPO (*Paysandisia archon* Burmeister) ali na EPPO seznamu škodljivih organizmov A1/A2 (*Fusarium foetens* Schroers *et al.*) oziroma so bili v času najdbe na EPPO "Alert list" (*Plasmopara obducens* J. Schröt. in *Cylindrocladium buxicola* Henricot). Tujerodni vrsti kaparjev - *Aspidiotus destructor* Signoret in *Chrysomphalus aonidum* (Linnaeus) ter bakterija *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *poinsettiae* (Starr & Pirone) so bili prvič potrjeni na ozemlju Slovenije, niso pa uvrščeni na nobenega od navedenih seznamov.

Ključne besede: karantenski organizmi, novi škodljivi organizmi, preprečevanje širjenja, Slovenija, zdravstveni nadzor rastlin

ABSTRACT

NEW PESTS DETECTED ON PLANTS MOVED FROM MEMBER STATES OF THE EUROPEAN UNION OR DURING THE PRODUCTION IN SLOVENIA IN 2008

The Phytosanitary inspection service carries out regular inspections of plants, plant products and other objects, which can transmit harmful organisms and are listed in annexes of Council Directive 2000/29/EC (OJ L 169, 10.07.2000) or in European Commission decisions on emergency measures. During plant health checks of regulated plants, phytosanitary

¹ univ. dipl. inž. agr., Parmova 33, SI-1000 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., Vrtojba, SI-5290 Šempeter pri Gorici

³ mag. agr. znan., Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica

⁴ mag. agr. znan., Obrtna ulica 28, SI-9000 Murska Sobota

⁵ univ. dipl. inž. agr., Vojkovo nabrežje 38, SI-6000 Koper

⁶ mag. agr. znan., Vodovodna 34, SI-2000 Maribor

⁷ mag. agr. znan., Opekarniška c.2, SI-3000 Celje

inspectors control also other plants that can be host of new pests, which are listed in the Alert list of the European and Mediterranean Plant Protection Organisation (EPPO). Inspection is carried out at places where these plants are moved, produced, processed, stored, sold or otherwise used, as well as in the premises of buyers and during introduction from third countries, export and transit. In the framework of regular inspection of plants some pests were detected for the first time in Slovenia in 2008. Some of them are listed in the Annex II.A.II of Council Directive 2000/29/EC and on the List A2 of EPPO (*Paysandisia archon* Burmeister) or are listed only on the EPPO list of quarantine pests A1/A2 (*Fusarium foetens* Schroers et al) or they were at the time of finding listed on the EPPO Alert list (*Plasmopara obducens* J. Schröt. and *Cylindrocladium buxicola* Henricot). Alien species of scale insects - *Aspidiotus destructor* Signoret, *Chrysomphalus aonidum* (Linnaeus) and bacteria *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *poinsettiae* Starr & Pirone were found for the first time on the Slovene territory and are not listed on any of the above mentioned lists.

Key words: new pests, quarantine organisms, plant health control, prevent spreading, Slovenia

1 UVOD

Fitosanitarna inšpekcija izvaja redni zdravstveni nadzor rastlin, rastlinskih proizvodov in nadzorovanih predmetov (v nadaljevanju: rastline), ki so prepoznani kot prenašalci nevarnih škodljivih organizmov in so uvrščeni v sezname Direktive Sveta 2000/29/EC ali v odločbe Evropske komisije (EK) o nujnih ukrepih. V času zdravstvenih pregledov nadzorovanih rastlin fitosanitarni inšpektorji preverjajo tudi druge rastline, ki bi lahko bile gostiteljice novih škodljivih organizmov, na primer iz opozorilnega seznama ("Alert list") ali karantenskih seznamov Evropske in mediteranske organizacije za varstvo rastlin (EPPO). Nadzor poteka na mestih, kjer se rastline premeščajo (prodajajo), pridelujejo, predelujejo, skladiščijo ali drugače uporabljajo, kot tudi v prostorih kupcev in pri vnosu iz tretjih držav, izvozu ter tranzitu.

2 MATERIAL IN METODE

Fitosanitarna inšpekcija opravlja preglede rastlin na podlagi nacionalnega programa za fitosanitarno področje ter programa fitosanitarne inšpekcije. Pri registriranih imetnikih je predpisan najmanj en pregled letno, pri pridelavi izven registriranih mest je število pregledov odvisno od programov posebnih nadzorov za ugotavljanje pojava oziroma razširjenosti določenih škodljivih organizmov, pri distributerjih in v maloprodajnih trgovinah pa glede na tveganje pojava škodljivih organizmov iz preteklih izkušenj, novih trgovskih poti, poročanja drugih držav, medijev, strokovnih člankov ter prijav imetnikov rastlin. Za namen tega prispevka so predstavljeni rezultati nadzora rastlin v notranjosti Slovenije, kjer so v letu 2008 fitosanitarni inšpektorji opravili 4.663 pregledov, od tega:

- 1.142 pri registriranih imetnikih rastlin, rastlinskih proizvodov in nadzorovanih predmetov, ki se ukvarjajo z dejavnostjo pridelave oziroma distribucije;
- 2.286 pri pridelavi izven registriranih mest, pri imetnikih rastlin v okviru izvajanja posebnih nadzorov, zaradi ugotavljanja pojava in preprečevanja širjenja škodljivih organizmov s Seznamov CD/2000/29 in odločb EK;
- 394 pri premeščanju na trgu (distribucija, maloprodaja).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 *Paysandisia archon* – palmov vrtač (Insecta, Lepidoptera, Castniidae)

Palmov vrtač je škodljivi organizem palm. Izvira iz Argentine, razširjen je v Srednji in Južni Ameriki, kjer ni obravnavan kot škodljiv organizem, saj njegovo populacijo zmanjšujejo

naravni sovražniki. V Skupnosti (državah članicah Evropske skupnosti) je obravnavan kot nadzorovan karantenski škodljiv organizem in zato je uvrščen na EPPO seznam A2 in Seznam II.A.II CD 2000/29/EC, kamor so uvrščeni škodljivi organizmi, ki se pojavljajo v Skupnosti in so pomembni za celotno Skupnost. Glede na omenjeni seznam je palmov vrtač karantenski organizem na rastlinah palm (Arecaceae [=Palmae]) za saditev, če njihova debelina stebela pri osnovi presega 5 cm in pripadajo rodovom: *Brahea*, *Butia*, *Chamaerops*, *Jubaea*, *Livistona*, *Phoenix*, *Sabal*, *Syagrus*, *Trachycarpus*, *Trithrinax*, *Washingtonia*. O njegovem pojavu poročajo iz Francije, Španije in Italije, kjer povzročajo odmiranje palm.

Odrasli osebki palmovega vrtača letajo od junija do septembra, samice izležejo rižu podobna jajčeca na steblo pri listni osnovi ali na terminalni vršiček. Gosenica vrta debele rove v deblu. Odrasla gosenica meri od 6 do 9 cm, v povprečju okoli 7,3 cm. Odrasla gosenica se zabubi v kokonu (velikost 5 cm, rjavo rdečkaste barve), ki je od zunaj zaščiten s pletežem iz palmovih vlaken. Odrasli metulj je zelo lep in tudi zaradi velikosti opazen, saj meri v premeru kril 9–11 cm. Prva krila so zeleno rjave barve, s črnkasto rjavkastimi sredinskimi črtami. Zadnja krila so oranžna s široko črno progo, ki vsebuje 5 ali 6 belih celic. Metulji letajo podnevi in so izjemni letalci, saj dosežejo hitrost tudi do 20 m/s. Celoten razvoj palmovega vrtača traja najmanj eno leto, v povprečju pa 12,8 meseca, nekateri osebki pa za celoten razvoj potrebujejo dve leti (Sarto i Monteys & Aguilar, 2005).

Ob pojavu večjega števila gosenic rastlina šibi in lahko tudi odmre. Znamenja napada so vidna kot poškodbe na deblu, žagovinasti izločki na deblu, luknjičasto razjedeni listi palm in hiranje terminalnega dela palm. Na pojav palmovega vrtača nas lahko opozorijo tudi upadljivi odrasli metulji, ki obletavajo palme.

Palmov vrtač je bil potrjen v Sloveniji na palmi vrste *Trachycarpus fortunei*, pridelane iz semena v Sloveniji. Rastline so bile posajene in namenjene za rezano cvetje. Lokacija najdbe je bila v bližini Izole. Od skupno 89 rastlin je bilo 13 rastlin z znamenji napada, ki so bile uničene. Poleg nasada teh rastlin je prodajni center, kjer trgujejo s palmami, ki so jih prejeli tudi iz drugih držav. Zato obstaja utemeljen sum, da se je palmov vrtač razširil iz palm v prodajnem centru. Visoka žumara (*Trachycarpus fortunei*) je v Slovenski Istri in na Goriškem daleč najpogostejša vrsta palm in hkrati tudi med najbolj privlačnimi za palmovega vrtača.

3.2 *Fusarium foetens* Schroers et al.

F. foetens je bila kot nova vrsta *Fusarium* (različna od *F. begoniae*) potrjena leta 2000 na Nizozemskem na rastlinah *Begonia x hiemalis*. Določil jo je sedaj raziskovalec na Kmetijskem inštitutu Slovenije, Hans Hosef Schroers. Kasneje so o njej poročali še iz Nemčije in ZDA. Izvor *F. foetens* ni znan. Do sedaj je bila potrjena le na rastlinah *Begonia x hiemalis*. *F. foetens* je uvrščena na EPPO seznam A2 karantenskih škodljivih organizmov. Okužene rastline trohnijo v spodnjem delu stebela, žile rumenijo, rastline venijo. Gliva se razširi tudi v prevodnem sistemu rastline. Na spodnjem delu stebela propadajočih rastlin se razvijejo veliki skupki makrokonidijev blede oranžne barve. Poročajo o škodi na rastlinah, le te lahko tudi odmrejo. *F. foetens* proizvaja več tipov spor, ki zagotavljajo širjenje na kratke razdalje: mikrokonidiji (širjenje z vodo), makrokonidiji (širjenje z zrakom in vodo) in klamidospore (preživijo v zemlji). Voda za namakanje, ki kroži, je lahko vir okužbe. Na daljše razdalje se širi predvsem s trgovino z okuženimi begonijami (tudi s potaknjenci) in okuženim substratom, v katerem okužene rastline rastejo. Varstvo pred boleznijo zajema predvsem higienske ukrepe pri pridelovanju.

Gliva *Fusarium foetens* je bila ugotovljena na rastlinah *Begonia x hiemalis* med rednim letnim pregledom pri pridelovalcu rastlin za maloprodajo. Med 75 rastlinami je bila ena rastlina z očitnimi znamenji okužbe, saj je bila popolnoma propadla, ostale so delno propadle. Vidno je bilo propadanje posameznih listov, okužba je bila različno porazdeljena po listih in

pecljih. Vir okužbe so bile mlade rastline, po izvoru iz Nizozemske. Znamenja napada so težko vidna na začetku okužbe (Schroers HJ *et al.*, 2003).

3.3 *Plasmopara obducens* J. Schröt

Gliva je bila prvič potrjena leta 1942 v ZDA. Razširjena je v nekaterih državah Azije, Severne in Centralne Amerike ter v Evropi. Pojavlja se na gojenih in divjih vrstah vodenk (*Impatiens*). Pri napadenih rastlinah je zgornji del lista sprva živo zelene do rumene barve, brez razločno vidnih bolezenskih znamenj. Na spodnji strani lista je opaziti belo plesnivo prevleko. Listi pozneje porumenijo in odpadajo. Okužene mlade rastline običajno odmrejo. Spore se širijo z zračnimi in vodnimi tokovi, rastlinami za saditev in zemljo.

V Sloveniji je bila prvič potrjena v letu 2008 na rastlinah *Impatiens walleriana*, opažena med rednim pregledom rastlin pri pridelavi v zavarovanem prostoru, na dveh lokacijah. Bolezenska znamenja so se pojavljala na več kot 50% mladih rastlin. Te rastline so pozneje propadle. Okužba rastlin je sistemična. Sklepamo, da je bila bolezen zanesena v Slovenijo z okuženimi sadikami vodenk po izvoru iz Italije.

Gliva je bila v času najdbe na EPPO Alert listi, konec leta 2008 je bila s te liste umaknjena, saj je bilo na podlagi analize tveganja ugotovljeno, da je ob ustrezni pridelavi obvladljiva.

3.4 *Cylindrocladium buxicola* Henricot

C. buxicola je bila po letu 1990 potrjena v Veliki Britaniji in kasneje v Novi Zelandiji. Razširjena je tudi v številnih evropskih državah. Gostiteljske rastline glive so *Buxus sempervirens*, *B. microphylla* in *B. sinica*. Znamenja okužbe so temno rjave pege na listih, ki včasih prekrijejo celotno listno ploskev (posledica je defoliacija) in črne proge na stebelu. Gliva preživi v obliki spor v odpadlih listih. Prenaša se z rastlinami za saditev, zemljo, vodnimi tokovi, živalmi in ljudmi. V letu 2008 je bila umaknjena iz EPPO Alert seznama, saj se ni pokazala kot organizem, ki si zasluži karantenski status.

V Sloveniji je bila v letu 2008 potrjena v več vrtnih centrih na rastlinah *Buxus sempervirens*. Glede na številne najdbe sklepamo, da je že zelo razširjena v državah, iz katerih prejemo sadike pušpana (Nemčija, Italija). Varstvo pred boleznijo zajema predvsem higienske ukrepe pri pridelovanju sadik.

3.5 *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *poinsettia* Starr & Pirone

Gram-pozitivna bakterija, ki povzroča bolezenska znamenja na božičnih zvezdah. Bakterijska okužba se izraža v obliki nekroz na listih, ki jih obdaja rumeni kolobar, vodenih peg nepravilnih oblik, razbarvanja in rumenenja listov, slabše razvitih braktej in odpadanja listov, ki se lahko konča s popolno defoliacijo. Bakterija se prenaša z rastlinami za saditev ter preko vrtnarskega orodja in vode ob zalivanju. Ugotovljena je bila med pregledom pridelave rastlin za maloprodajo, pri enem pridelovalcu. Vir okužbe so bile najverjetneje okužene sadike, s potnim listom iz Nemčije. Okužene rastline so propadle.

3.6 *Aspidiotus destructor* Signoret in *Chrysomphalus aonidum* (Linnaeus)

Kaparja *A. destructor* in *C. aonidum* sta bila determinirana na rastlini *Dracaena marginata* v prodajnem centru, na pošiljki iz Nizozemske. Ker se te vrste kaparjev lahko zatirajo s kemičnimi sredstvi ne predstavljajo posebne nevarnosti za Slovenijo.

A. destructor je tropska in subtropska vrsta kaparja, ki se pojavlja na velikem številu rastlinskih vrst, med katerimi so kokosova in druge palme, banana, avokado, kakavovec in

druge. V Evropi je bila ta vrsta kaparja doslej najdena v Nemčiji, Veliki Britaniji, v Italiji in Rusiji, verjetno pa je na okrasnih rastlinah bolj razširjen (Fauna Europaea, 2007).

C. aonidium je polifagna vrsta kaparja, ki se največkrat pojavlja na agrumih, zabeležen je bil na rastlinah iz 77 rastlinskih družin, vključno s poljščinami, okrasnimi rastlinami, palmami in gozdnimi rastlinami. V Evropi je bil doslej ugotovljena v večini držav Skupnosti (Fauna Europaea, 2007).

4 SKLEP

Redno spremljanje zdravstvenega stanja rastlin na mestu pridelave in pri premeščanju je zelo pomembno za zgodnje ugotavljanje pojava novih škodljivih organizmov. Trgovanje z rastlinami in rastlinskimi proizvodi med državami in celinami je ustaljena praksa in predstavlja veliko možnosti za širjenje organizmov. To so lahko organizmi, za katere je že z analizo tveganja ugotovljeno, da lahko ob naselitvi povzročajo večjo gospodarsko in okoljsko škodo in se zato uvrščajo na sezname nadzorovanih karantenskih škodljivih organizmov. Zgodnja ugotovitev njihovega pojava poveča možnost učinkovitosti ukrepanja za preprečevanje širjenja in zatiranje. Posledica večje navzočnosti škodljivega organizma na nekem območju so bolj drastični in obširni ukrepi za zatiranje in vprašljiva je možnost preprečitve širjenja na druga območja. Pomembno pa je tudi prepoznavanje novih organizmov, ki bi bili lahko potencialni škodljivi organizmi.

5 LITERATURA

- Direktiva Sveta 2000/29/EC z dne 8. maja 2000 o varstvenih ukrepih proti vnosu organizmov, škodljivih za rastline ali rastlinske proizvode, v Skupnost in proti njihovemu širjenju v Skupnost (UL L 169, 10.07.2000).
- CSL Pest Risk Analysis for Plasmopara obducens:
<http://www.fera.defra.gov.uk/plants/plantHealth/pestsDiseases/documents/pobducens.pdf>;
 updated 22.10.2007.
- EPPO, 2007. Panel meeting on Phytosanitary Measures (2007-03-06/09).
- EPPO: <http://www.eppo.org/QUARANTINE/quarantine.htm>, last updated 4.5.2009.
- Fauna Europaea: <http://www.faunaeur.org/>; last update 19 April 2007.
- Henricot, B., Perez Sierra, A., Prior, C., 2000. A new blight disease on *Buxus* in the UK. caused by the fungus *Cylindrocladium*. Plant Pathology (2000) 49, 805.
- NC, State University: <http://www.ces.ncsu.edu/depts/hort/poinsettia/corrective/c18.html>; last update 20.2.2009.
- Penn State University: http://www.ppath.cas.psu.edu/EXTENSION/PLANT_DISEASE/poinsett.html;
 last update 19.5.2008.
- Royal Horticultural Society (UK). Research projects: plant pests and diseases.
http://www.rhs.org.uk/research/project_pandd.asp.
- Sarto i Monteys, V., Aguilar, L., 2005. The Castniid Palm Borer, *Paysandisia archon* (Burmeister, 1880), in Europe: Comparative biology, pest status and possible control methods (Lepidoptera: Castniidae). Nachr. entomol. Ver. Apollo, N. F. 26 (1/2): 61–94.
- Schroers, HJ. et al., 2003. *Fusarium foetens*, a new species pathogenic to begonia elatior hybrids (*Begonia x hiemalis*) and the sister taxon of the *Fusarium oxysporum* species complex. Mycologia 96(2), 393–406.

**PRELIMINARNI REZULTATI BIOTIČNEGA ZATIRANJA OGRCEV
POLJSKEGA MAJSKEGA HROŠČA (*Melolontha melolontha* L.) Z
ENTOMOPATOGENO GLIVO *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch V OBČINAH
IDRIJA IN LOGATEC**

Franci CELAR¹, Nevenka VALIČ², Jolanda PERSOLJA³

^{1,2} Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

³ Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec

IZVLEČEK

V letih 2007 in 2008 smo spremljali populacijsko dinamiko poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) na omočju Zadloga, Idrijskega Loga in Hotedrščice, v povezavi z okoljskimi dejavniki in aplikacijo entomopatogene glive *Beauveria brogniartii* v tla. Število odraslih hroščev smo spremljali s svetlobno in feromonskimi vabami. Slednje niso bile zanesljive, zato za spremljanje leta hroščev priporočamo le uporabo svetlobnih vab. Izletavanje hroščev je doseglo vrh okoli 10. maja, po tem datumu se je število ujetih hroščev zmanjševalo in ulov se je končal v začetku junija 2007. S svetlobno vabo smo leta 2008 ugotovili, da se poleg glavne pojavlja tudi vmesna generacija škodljivca, vendar v omejenem obsegu. Spremljali smo tudi številčnost ogrcev v tleh pred in po aplikaciji biotičnega pripravka Melocont-Pilzgerste® na 24 lokacijah (tretirane in netretirane površine). Preliminarni rezultati kažejo, da se je med letom 2008 populacija ogrcev na večini lokacij zmanjševala in dosegla vrednosti pod 10 ogrcev/m². Populacija ogrcev se je med letom zmanjševala tudi na netretiranih zemljiščih oz. tretiranih šele jeseni 2008.

Ključne besede: *Beauveria brongniartii*, biotično varstvo, feromonske vabe, *Melolontha melolontha*, svetlobne vabe

ABSTRACT

**PRELIMINARY RESULTS ON BIOLOGICAL CONTROL OF WHITE GRUBS
(*Melolontha melolontha* L.) WITH ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Beauveria
brongniartii* (Sacc.) Petch IN IDRIJA AND LOGATEC AREA**

Monitoring of population dynamics of *Melolontha melolontha* during 2007-2008 was performed in the area of Zadlog, Idrijski log and Hotederšica, in due to environmental factors and application of entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii* in soil study. The number of adult cockchafers, emerging from the soil, was estimated by one light and several pheromone traps. As the last were not effective, we recommend using light traps for cockchafers monitoring. The highest number of the caught cockchafers was achieved around May 10th; afterwards it decreased. From the beginning of June 2007 none cockchafers were caught. Using the light trap in 2008 showed existence of an intermediate generation between the main generation of cockchafers. The number of white grubs in the soil was also monitored before and after the application of biological product Melocont-Pilzgerste® on 24 locations (treated and untreated areas). Preliminary results showed that during 2008 the population of white grubs decreased on almost all

¹ prof., dr. agr. znan., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

³ mag., Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec

observed areas under the critical value, 10 grubs/m². The same results were obtained on the population of white grubs on untreated areas or those, treated in autumn 2008.

Key words: *Beauveria brongniartii*, biological control, feromone traps, *Melolontha melolontha*, light traps

1 UVOD

Leta 2004 se je na območju Črnovrške planote prerasmnožila populacija poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.). Gre za območje občine Idrija, krajevno skupnost Črni vrh nad Idrijo, zaselke Zalog, Idrijski Log, Podgriže in naselje Črni vrh. Območje je značilna kraška pokrajina na nadmorski višini 650 do 700 m. Po grobi oceni je bilo prizadetih 50-100 hektarjev zemljišč. Prevladujejo travniki in pašniki, njiv je malo.

Zaradi izredne občutljivosti kraške pokrajine (vodovarstveno območje, plitva, skeletna tla), smo leta 2005 začeli s poskusnim biotičnim zatiranjem škodljivca. Ministrstvo za okolje in prostor je podlagi Presoje tveganja za naravo izdalo pozitivno mnenje za uporabo biotičnega pripravka na podlagi entomopatogene glive *Beauveria brongniartii* (Melocont-Pilzgerste®).

Zaradi vzpodbudnih rezultatov po prvi aplikaciji entomopatogene glive leta 2005, so se leta 2007 na MKGP, Fitosanitarni upravi RS, odločili za sistematično izvajanje ukrepa na zemljiščih večjega obsega v občinah Črni Vrh in Logatec (286 ha leta 2007 in 564 ha leta 2008). Inštitut za fitomedicino je bil zadolžen za spremljanje številčnega gibanja populacije poljskega majskega hrošča, in okoljskih dejavnikov z namenom ugotavljanja praga škodljivosti glede na razvojni stadij škodljivca, ustreznega časa biotičnega tretiranja z biotičnim pripravkom ter učinkovitosti izvedenega tretiranja.

2 MATERIALI IN METODE DELA

V skladu s programom smo številčno stanje populacije škodljivca ugotavljali s talnimi izkopi, z ulovom odraslih osebkov in vizualnim opazovanjem. Okoljske dejavnike (temperature zraka in tal, količina padavin) smo spremljali z meritvami (agrometereološka postaja Adcon v Zadlogu in meteorološke postaje ARSO):

- na izbranih lokacijah smo v letu 2007 postavili 10 feromonskih in eno svetlobno vabo ter v času od aprila do julija dnevno spremljali ulov odraslih hroščev,
- na izbranih tretiranih parcelah smo enkrat mesečno od aprila do oktobra pred tretiranjem in po njem opravili talne izkope (24), z namenom spremljanja številčnosti in razvojnih stadijev populacije škodljivca in posledično učinkovitosti pripravka Melocont-Pilzgerste® (slika 1).

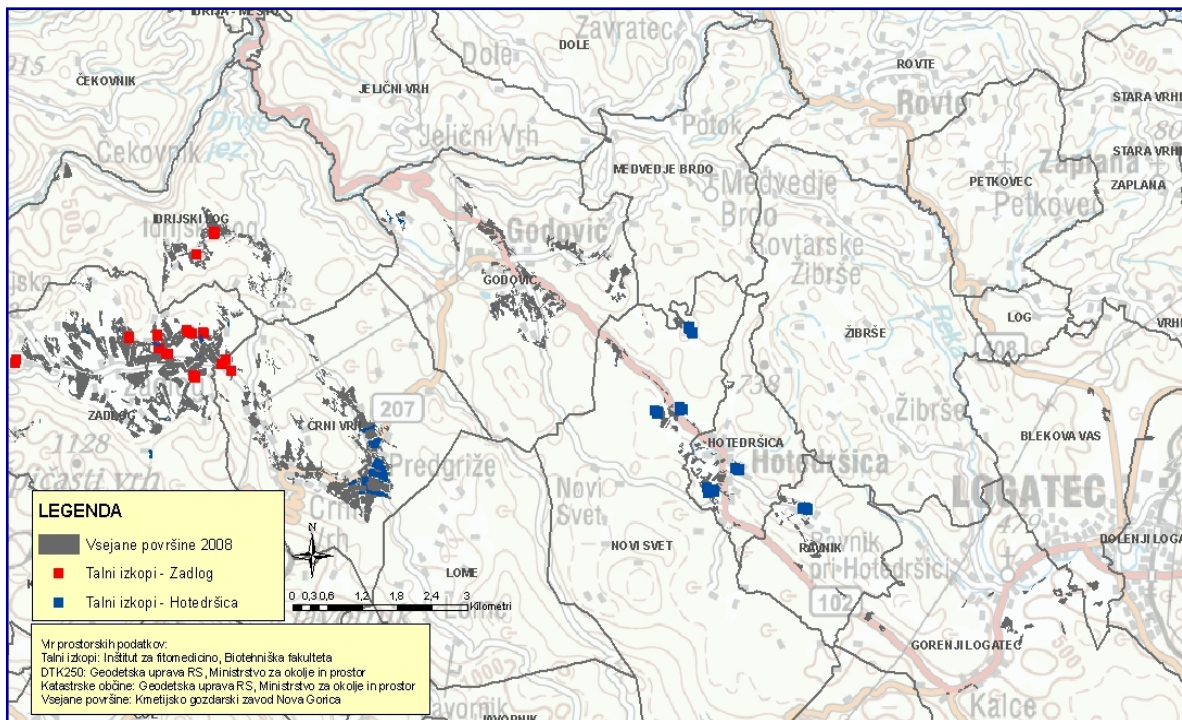
Spremljanje ulova in talnih izkopov smo evidentirali tudi z uporabo programskega paketa ArcGIS Desktop 9.2 (ESRI)

3 REZULTATI

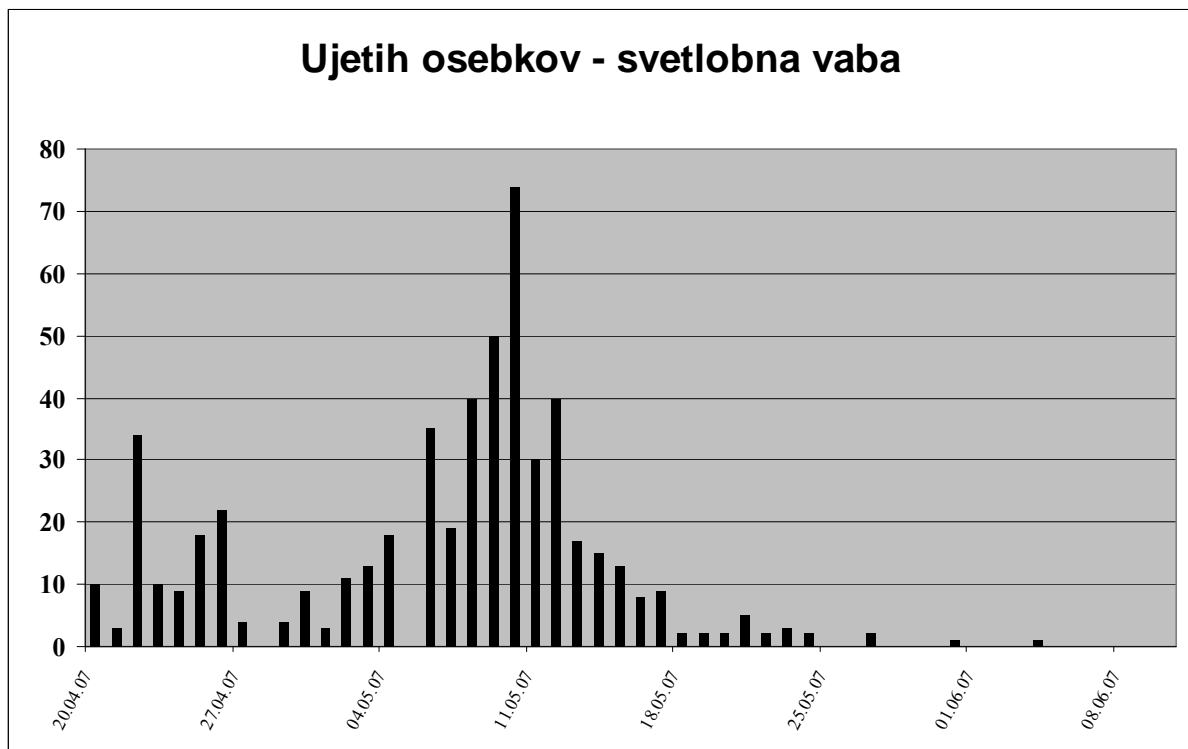
3.1 Let poljskega majskega hrošča leta 2007 – ulov

Zaradi izredno toplega začetka pomladi, so začeli prvi odrasli osebki poljskega majskega hrošča izletati iz tal že konec marca oziroma v začetku aprila. Glede na rezultate ulova na svetlobni vabi se je dinamika izletanja hroščev konec aprila in v začetku maja zmanjšala zaradi neugodnih okoljskih razmer (izredno trda, sušna tla). Izletanje hroščev se je spet povečalo v drugem tednu maja in doseglo vrh okoli 10. maja. Po tem datumu se je število ujetih hroščev zmanjševalo in ulov se je končal v začetku junija. Dinamiko leta (ulova) hroščev poljskega majskega hrošča od 20. aprila do 10. junija 2007 prikazuje slika 2.

Feromonske vabe, ki smo jih uporabili za spremljanje leta hroščev poljskega majskega hrošča, niso bile učinkovite in zanesljive. Ulov je bil na vseh lokacijah zanemarljiv. V prihodnje velja za spremljanje leta hroščev uporabljati le svetlobne vabe.



Slika 1: Prikaz lokacij talnih izkopov v letu 2008.

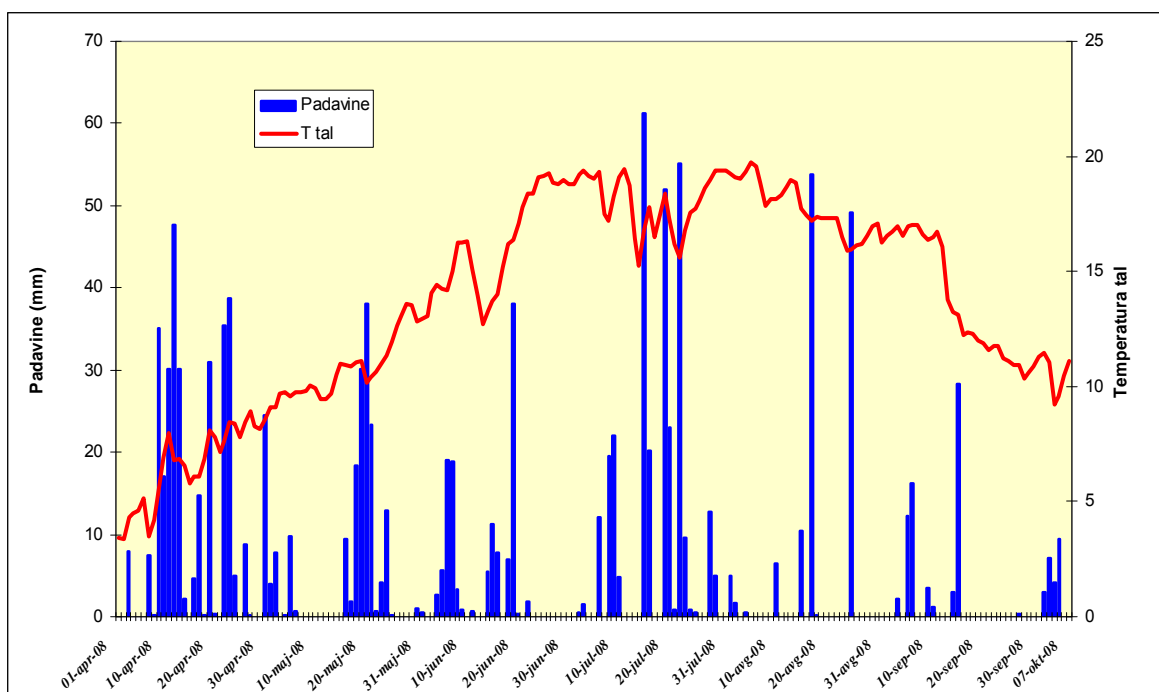


Slika 2: Dnevni ulovi odraslih hroščev na svetlobni vabi od 20. aprila do 10. junija 2007

Čeprav v letu 2008 nismo pričakovali večjega ulova odraslih osebkov smo postavili omenjene vabe zato, da bi ugotovili ali obstajajo na območju črnovrške planote poleg »glavne« tudi vmesne generacije poljskega majskega hrošča. Let smo spremljali v obdobju od 10. maja do 10. junija 2008. Kot v preteklem letu so se feromonske vabe izkazale za neučinkovite. Na vseh lokacijah v omenjenem obdobju nismo ulovili niti enega odraslega osebka. Tudi na svetlobni vabi je bil ulov bolj pičel, vendar smo kljub temu ujeli med 25. in 30. majem 3 odrasle osebkke. Na črnovrški planoti se torej pojavljajo tudi vmesne generacije poljskega majskega hrošča, vendar v zelo omejenem obsegu.

3.2 Metereološki podatki in njihov vpliv na aktivnost ogrcev poljskega majskega hrošča

Spremljanje meteoroloških podatkov o temperaturi zraka, temperaturi tal in količini padavin (slika 3) ter spremljanje ogrcev poljskega majskega hrošča, je pokazalo odvisnost aktivnosti ogrcev poljskega majskega hrošča od podnebnih razmer.



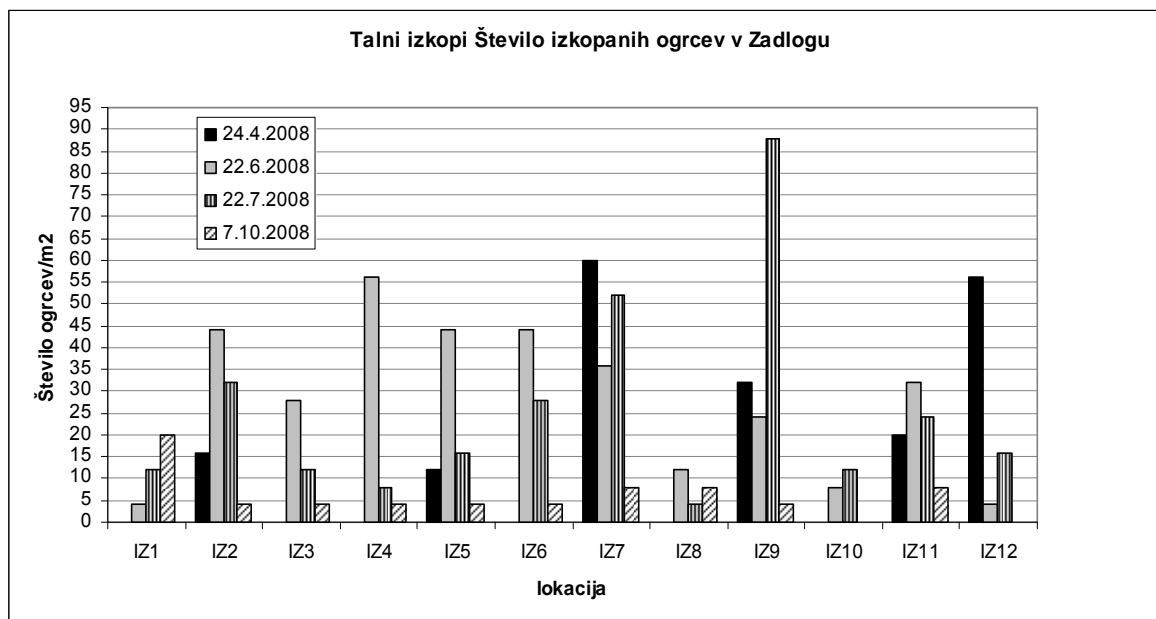
Slika 3: Povprečne dnevne temperature tal in padavine od 1. aprila do 7. oktobra 2008 za kraj Zadlog.

Konec meseca aprila se je povprečna temperatura tal povzpela nad 8°C in v povezavi s tem se je začela tudi aktivnost ogrcev poljskega majskega hrošča. Iz globine 60-70 cm, kjer so prezimili, so se ogrci začeli gibati navzgor v območje korenin. Aktivnost ogrcev in škoda, ki jo povzročajo s hranjenjem na koreninah, je v tesni korelaciji s povprečno temperaturo tal. Največjo škodo zaradi obžiranja korenin so povzročili takrat, ko je temperatura tal dosegla najvišje vrednosti (okoli 19°C). Seveda je temperatura tal ozko povezana s temperaturo zraka, vendar so dnevna nihanja precej manjša.

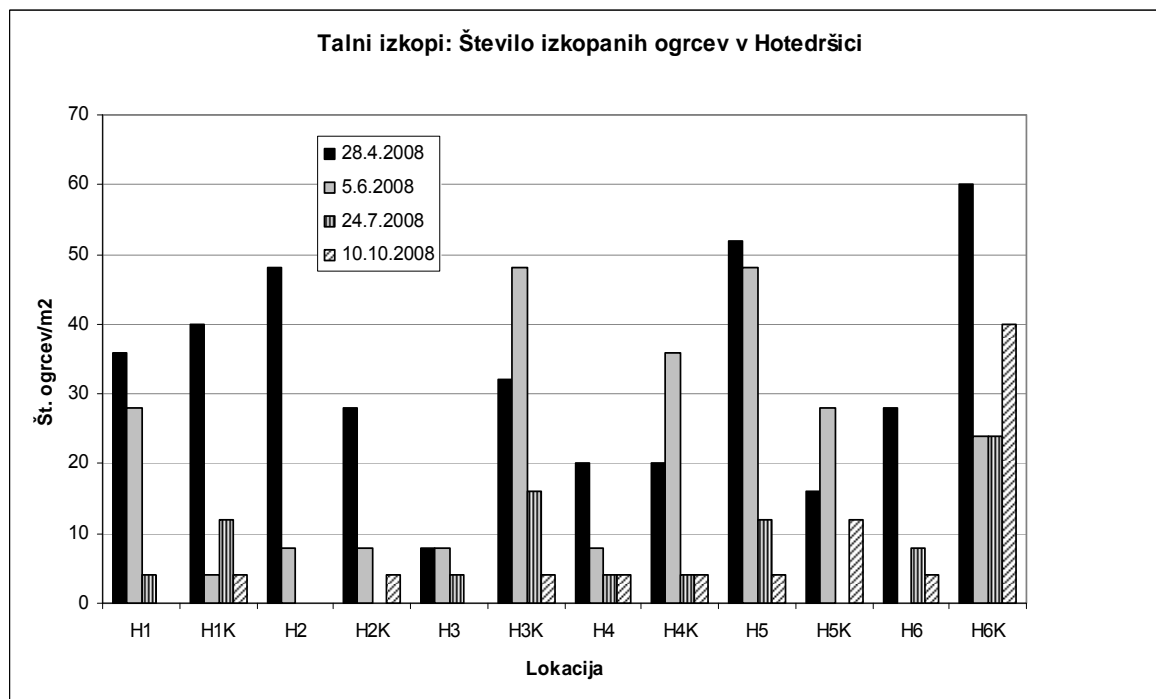
3.3 Dinamika populacije ogrcev poljskega majskega hrošča na območju Zadloga in Hotedrščice

Rezultati talnih izkopov na območju Zadloga in Idrijskega Loga konec aprila (slika 4) so se izkazali za zelo nezanesljive, ker se je takrat šele začela aktivnost ogrcev v tleh

(temperatura tal nad 8 °C) in njihovo gibanje proti območju korenin. Čeprav se po priporočeni metodi za talne izkope koplje do globine 50 cm, smo v nekaterih primerih našli ogrce tudi v globini 70 cm. Ker so bila tla močno razmočena, je bilo kopanje na nekaterih lokacijah mogoče le do 50 cm (zalivanje izkopov z vodo).



Slika 4: Številčno gibanje populacije ogrcev poljskega majskega hrošča po posameznih lokacijah in časovnih terminih na območju Zadloga in Idrijskega Loga.



Slika 5: Številčno gibanje populacije ogrcev poljskega majskega hrošča po posameznih lokacijah in časovnih terminih na območju Hotedršice.

Ugotovili smo, da se je populacija ogrcev poljskega majskega hrošča na večini lokacij zmanjševala in dosegla vrednosti pod 10 ogrcev/m². Izjema sta lokaciji IZ1 in IZ12. Zanimivo je, da se je populacija ogrcev med letom zmanjševala tudi na netretiranih zemljiščih oz. tretiranih šele jeseni 2008.

Zadnji izkopi so bili narejeni 10. oktobra, ko je bilo opravljeno vsejavanje ječmena z glivo tudi na teh, prej kontrolnih zemljiščih. Drastično zmanjšanje populacije je mogoče razložiti z mehaničnim uničenjem ogrcev v času vsejavanja ječmena z glivo.

Podobne rezultate smo dobili na območju Hotedrščice (slika 5). Tudi tu so rezultati talnih izkopov na nekaterih lokacijah nezanesljivi iz enakih razlogov kot je omenjeno zgoraj. Na območju Hotedrščice smo izkope na netretiranih (kontrolnih) zemljiščih opravili v bližini tretiranih, vendar moramo opozoriti, da je šlo za zemljišča, ki so močno razgibana (robovi vrtač) ali za zelo skeletna tla in na njih ni bilo mogoče vsejavanje glive. Na območju Hotedrščice se je populacija ogrcev na večini lokacij do 10. oktobra močno oziroma drastično zmanjšala in v večini primerov ne presega praga 10 ogrcev/m². Za dokončno potrditev zgornjih ugotovitev bomo talne izkope ponovno opravili sredi maja 2009, ko se prezimeli ogrci dvignejo v območje korenin.

4 SKLEPI

- Za spremljanje leta odraslih hroščev priporočamo le uporabo svetlobnih vab, ker so feromonske vabe nezanesljive in ulovi ne kažejo realne slike.
- Izletavanje hroščev je doseglo vrh okoli 10. maja 2007, po tem datumu se je število ujetih hroščev zmanjševalo in ulov se je končal v začetku julija.
- V letu 2008 se je pojavila vmesna generacija škodljivca, vendar v zelo zmanjšanem obsegu.
- Med letom 2008 se je populacija ogrcev na večini lokacij zmanjševala, tudi na netretiranih oziroma tretiranih šele jeseni 2008.

5 ZAHVALA

Za finančno pomoč pri izvedbi raziskav se zahvaljujemo Ministrstvu za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, Fitosanitarni upravi RS (pogodba št. 2321-08-210016).

6 LITERATURA

Literatura je na voljo pri prvem avtorju.

KAZALO AVTORJEV / INDEX OF AUTHORS

AMBROŽIČ-TURK Barbara		FINŠGAR Damjan	357
	243		
BAJEC Domen	293, 363 , 431	FIŠER Stanislava	17
BASSI Andrea	39	GABERŠEK Vesna	47
BAŠA ČESNIK Helena	31, 59	GERIČ STARE Barbara	197
BAVEC Franc	187	GODENA Sara	467
BENKO BELOGLAVEC Anita	71, 93, 105, 123 , 367, 483	GRAHOVAC Mila	373
BERDEN Bojan	105	GRANDO Zdenko	123, 483
BERNIK Rajko	309	GREGORČIČ Ana	31, 59
BJELIŠ Mario	397 , 403	GRIL Tjaša	261
BOBEN Jana	237, 243	GROBIN Aleš	349
BRZIN Jernej	249	GROZNIK Katarina	71
BURSIĆ Vojislava	373	GUTIERREZ AGUIRRE Ion	457
CELAR Franci	79, 261, 489	HORVÁTH József	479
CELAR Mojca	79	HREN Matjaž	237
ČELAN Mirjam	71	ILAK-PERŠURIĆ Anita Silvana	467
ČERENAK Andreja	453	INĐIĆ Dušanka	373
ČERNIČ ISTENIČ Majda	17	JAKOP Manfred	187
DELIĆ Duška	457	JAKŠE Jernej	261
DERMASTIA Marina	237	JAVORNIK Branka	261
DMINIĆ Ivana	467	JERMAN CVELBAR Joži	87, 99, 105 , 367
	215, 219,		
DREO Tanja	231, 243	JÖRG Erich	425
DROFENIK Jernej	1	JURŠA Franc	65
ĐERMIĆ Edyta	467	KAZINCZI Gabriella	479
FAJT Nikita	243	KNAPIČ Vlasta	71 , 79 , 453
FAŠNIK Barbara	65	KOCJAN Ačko Darja	181
FERANT Nataša	453	KOMEL Erika	243

			93, 243, 249,
KORIĆ Bogdan	273 , 385, 389	MEHLE Nataša	281 , 457
KOS Katarina	145, 175 , 441	MEŠL Miroslav	329, 343, 353
KOVAČ Boris	25	MIKLAVC Jože	329, 343 , 353
KOZMUS Peter	31, 285 , 379	MIKULIČ	
		PETKOVŠEK Maja	267 , 447
KRAMER Marko	357	MILEVOJ Lea	9 , 17, 167, 409
KRESNIK Katarina	3	MODIČ Špela	31, 285 , 379
KURNIK Vili	47	MODIČ Tina	473
LAKATOS Tamas	209	NIKOLIĆ Petra	237
LAZNIK Žiga	135, 209 , 435	OREŠEK Erika	111
LESKOŠEK Gregor	317	OZIMIČ Doroteja	3
LESKOŠEK Robert	323	PAJK Primož	105
LESKOVŠEK Lucija	453	PAVLIČ NIKOLIĆ Ema	255, 461 , 483
	47 , 187 , 249,		
	255, 299 , 323,		
LEŠNIK Mario	329	PERSOLJA Jolanda	363, 489
LEŠNIK Mojca	249 , 255 , 483	PETERLIN Andreja	293, 363, 431
	93 , 105, 123,		
LIČEN Radovan	367 , 483	PIRC Manca	215
LIKOZAR Ana	447	POTOČNIK Andrej	93, 99 , 105
LIPOVŠEK Gregor	231	POŽENEL Anka	129
LUKMAN Milan	87 , 105, 123	PREZELJ Nina	457
MARTELANC Mitja	159	PRINČIČ Matjaž	243
MASTEN MILEK Tatjana	273, 385 , 389	RACCA Paolo	425
MATIČIČ Lidija	231	RADIŠEK Sebastjan	453
MATIS Gustav	335 , 339	RADUNIĆ Dražen	403
MATKO Boštjan	329 , 343, 353	RAK CIZEJ Magda	317
MAVEC Roman	31		93, 215, 219,
			231, 237, 243,
		RAVNIKAR Maja	249, 281, 457
MAVRIČ PLEŠKO Irena	285	REMIC Mojca	409
MAVSAR Simona	71, 79	RISON J. L.	39

RITUPER Dejan	3	ŠUŠTARŠIČ Matej	231
RODIČ Karmen	293 , 363, 431	TAKÁCS András	479
	145 , 159, 175,		
ROJHT Helena	419 , 441	TOMIĆ Željko	273
ROT Mojca	129	TOMŠE Smiljana	293
ROZMAN Ludvik	473	TÓTH Timea	209
	111, 219, 243,		135, 145, 159 ,
SELJAK Gabrijel	293, 461, 483		167, 175, 209,
			419, 425, 435,
		TRDAN Stanislav	441
SIMONČIČ Andrej	31 , 59 , 323	TUŠEK ŽNIDARIČ Magda	281, 457
SIMONOVSKA Breda	159	URBANČIČ ZEMLJIČ Meta	191 , 285, 425
SKUBIC Jana	219	UREK Gregor	99, 197, 285, 425
SLIVNIK Urška	135	VAJS Stanislav	323, 329
SOLAR Anita	231, 343	VALIČ Nevenka	159, 489
STOPAR Matej	31	VEBERIČ Robert	243, 267, 447
STRAJNAR Polona	197	VELIKONJA BOLTA Špela	31, 59
SUŠIN Janez	59	VIDRIH Matej	135 , 435
ŠANTAVEC Igor	181	VIDRIH Rajko	159
ŠIMALA Mladen	273, 385, 389	VOVK Irena	159
ŠIRCA Saša	99, 197	VUČAJNK Filip	309
ŠIRCELJ Helena	409	VUKOVIĆ Slavica	373
ŠKERBOT Iris	167	WILES, J. A.	39
ŠKERLAVAJ Vojko	31	ZIDARIČ Igor	225
ŠNAJDER KOSI Katja	93, 483	ZVER Aleš	309
ŠTAMPAR Franci	231, 267, 447	ŽERJAV Metka	191
ŠTOLFA Darja	123	ŽNIDARČIČ Dragan	159
ŠUNJKA Dragana	373	ŽNIDARŠIČ PONGRAC Vida	59
		ŽVEPLAN, Silvo	317 , 323