

Društvo za varstvo rastlin Slovenije
Ljubljana

Plant Protection Society of Slovenia
Ljubljana

ZBORNIK PREDAVANJ IN REFERATOV

11. SLOVENSKEGA POSVETOVANJA O VARSTVU RASTLIN Z
MEDNARODNO UDELEŽBO
(in okroglo mizo o zmanjšanju tveganja zaradi rabe FFS v okviru
projekta CropSustaIn)
BLED, 5.-6. MAREC 2013

LECTURES AND PAPERS

PRESENTED AT THE 11TH SLOVENIAN CONFERENCE ON
PLANT PROTECTION WITH INTERNATIONAL
PARTICIPATION
(and the round table of risks reduction in phyto-pharmaceutical
products use in the frame of CropSustaIn project)
BLED, MARCH 5-6 2013

LJUBLJANA, 2013

Zbornik predavanj in referatov 11. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo (in okrogle mize o zmanjšanju tveganja zaradi rabe FFS v okviru projekta CropSustaIn), Bled, 5.–6. marec 2013

Izdajatelj Društvo za varstvo rastlin Slovenije, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana, <http://dvrs.bf.uni-lj.si/>

Urednika prof. dr. Stanislav TRDAN in akad. zasl. prof. ddr. Jože MAČEK

Tehnična urednika in oblikovalca prof. dr. Stanislav TRDAN in doc. dr. Matej VIDRIH

Fotografija na ovitku prof. dr. Stanislav TRDAN

Tisk Cicero, Begunje d.o.o.

Naklada 225 izvodov

Ljubljana, 2013

Prispevki so recenzirani. Za jezikovno ustreznost odgovarjajo avtorji.

CIP - Kataložni zapis o publikaciji

Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

632(082)

SLOVENSKO posvetovanje o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo (11 ; 2013 ; Bled)

Zbornik predavanj in referatov 11. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo (in Okrogle mize o zmanjšanju tveganja zaradi rabe FFS v okviru projekta CropSustaIn), Bled, 5.-6. marec 2013 = Lectures and papers presented at the 11th Slovenian Conference on Plant Protection with International Participation (and The Round Table of Risks Reduction in Phyto-pharmaceutical Products Use in the Frame of CropSustaIn Project), Bled, March 5-6 2013 / [urednika Stanislav Trdan in Jože Maček]. - Ljubljana : Društvo za varstvo rastlin Slovenije = Plant Protection Society of Slovenia, 2013

ISBN 978-961-93447-1-2

1. Trdan, Stanislav 2. Okrogla miza o zmanjšanju tveganja zaradi rabe FFS v okviru projekta CropSustaIn (2013 ; Bled)

268494592

Pokrovitelj:

Uprava Republike Slovenije za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin

Sponzorji:

Bayer Cropscience d.o.o.

Posvetovanje so podprli:

BASF Slovenija d.o.o.
 Karsia d.o.o. in DOW AgroSciences
 Pinus TKI d.d.
 Syngenta Agro d.o.o.
 Omega d.o.o., Ljubljana
 EFOS informacijske rešitve d.o.o.
 Pioneer Semena Holding GmbH, Murska Sobota

Donatorji:

Agroruše d.o.o.
 Chemass d.o.o., Ljubljana
 Lotrič d.o.o., Selca
 Remas d.o.o., Ljubljana
 Kambič laboratorijska oprema, Semič
 Chemtura Europe d.o.o.
 Mobilis d.o.o.

Predsednika Organizacijskega odbora / Presidents of the Organizing Committee

doc. dr. Gregor UREK, univ. dipl. inž. agr.
 prof. dr. Stanislav TRDAN, univ. dipl. inž. agr.

Organizacijski odbor / Organizing Committee

doc. dr. Matej VIDRIH, univ. dipl. inž. agr.	dr. Mojca VIRŠČEK MARN, univ. dipl. inž. agr.
asist. dr. Žiga LAZNIK, univ. dipl. inž. agr.	Marjeta ZEMLJIČ-URBANČIČ, univ. dipl. inž. agr.
Jaka RUPNIK, inž. les.	prof. dr. Maja RAVNIKAR, univ. dipl. biol.
dr. Saša ŠIRCA, univ. dipl. inž. agr.	Renata FRAS PETERLIN, univ. dipl. inž. agr.
dr. Barbara GERIČ STARE, univ. dipl. inž. biol.	Vlasta KNAPIČ, univ. dipl. inž. agr.
dr. Irena MAVRIČ PLEŠKO, univ. dipl. biol.	

Programski odbor / Scientific Committee

prof. dr. Stanislav TRDAN, univ. dipl. inž. agr.
 doc. dr. Gregor UREK, univ. dipl. inž. agr.
 dr. Saša ŠIRCA, univ. dipl. inž. agr.
 prof. dr. Maja RAVNIKAR, univ. dipl. biol.
 akad. zasl. prof. ddr. Jože MAČEK, univ. dipl. inž. agr., univ. dipl. oec.
 mag. Gabrijel SELJAK, univ. dipl. inž. agr.

Vsebina

Uvodni referati

- Jürg M. GRUNDER** Dosežki in izzivi ekološkega kmetijstva v Švici 1
- Bernd HOMMEL, Bernd FREIER, Jörn STRASSEMAYER, Wolfgang ZORNACH**
Tretji nemški akcijski načrt o trajnostni rabi fitofarmaceutskih sredstev – kontinuiteta in novi izzivi 6

Referati na okrogli mizi o zmanjšanju tveganja zaradi rabe fitofarmaceutskih sredstev

- Meta ZEMLJIČ URBANČIČ, Gregor UREK, Matej KNAPIČ, Vojko ŠKERLAVAJ, Andrej SIMONČIČ, Jolanda PERSOLJA, Magda RAK CIZEJ, Sebastjan RADIŠEK, Mario LEŠNIK** Analiza stanja rabe fitofarmaceutskih sredstev v Sloveniji 11
- Matej KNAPIČ, Gregor UREK, Meta ZEMLJIČ URBANČIČ, Vojko ŠKERLAVAJ, Andrej SIMONČIČ, Jolanda PERSOLJA, Magda RAK CIZEJ, Sebastjan RADIŠEK, Mario LEŠNIK** Primerjava rabe fitofarmaceutskih sredstev v Sloveniji in v izbranih evropskih državah 16
- Gregor UREK, Matej KNAPIČ, Meta ZEMLJIČ URBANČIČ, Vojko ŠKERLAVAJ, Andrej SIMONČIČ, Jolanda PERSOLJA, Magda RAK CIZEJ, Sebastjan RADIŠEK, Mario LEŠNIK** Pomen kazalnikov za spremljanje rabe fitofarmaceutskih sredstev 22
- Gregor UREK, Matej KNAPIČ, Meta ZEMLJIČ URBANČIČ, Vojko ŠKERLAVAJ, Andrej SIMONČIČ, Jolanda PERSOLJA, Magda RAK CIZEJ, Sebastjan RADIŠEK, Mario LEŠNIK** Možnosti in ukrepi za zmanjšanje tveganja zaradi rabe fitofarmaceutskih sredstev 27
- Peter KOZMUS, Andrej SIMONČIČ** Ugotavljanje in ocena vplivov različnih kmetijsko-pridelovalnih območij na pojavljanje ostankov fitofarmaceutskih sredstev v čebeljih pridelkih ter njihov vpliv na razvoj in zdravstveno stanje čebel 33
- Franci Aco CELAR, Katarina KOS** Fungistatični učinek izbranih herbicidov in fungicidov na entomopatogeno glivo *Beauveria bassiana* 38

Varstvo gozdnega drevja in drugih lesnatih rastlin

- Metka Žerjav, Anita BENKO BELOGLAVEC** Deset let nadzora fitoftorne sušice vejic (*Phytophthora ramorum*) v Sloveniji 46
- Tine HAUPTMAN, Dušan JURC** Ogroženost jesenov zaradi jesenovega ožiga v Sloveniji 52
- Barbara PIŠKUR, Tine HAUPTMAN, Nikica OGRIS, Dušan JURC** Bolezni borovih iglic v Sloveniji, ki jih povzročajo glive iz rodu *Mycosphaerella* 57
- Nikica OGRIS** Kratkoročna prognoza pojava pooglenitve bukve (*Biscogniauxia nummularia*) v Sloveniji 62

Varstvo sadnega drevja in jagodičevja

- Maja MIKULIČ-PETKOVŠEK, Valentina SCHMITZER, Franci ŠTAMPAR, Robert VEBERIČ, Darinka KORON** Odziv malin na okužbo z malinovo sušico (*Didymella applanata* in *Leptosphaeria coniothyrium*) 69

Manca PIRC, Tanja DREO Izbira metode ekstrakcije DNK za spremljanje organizma za biotično zatiranje, <i>Gliocladium catenulatum</i> J1446	74
Barbara AMBROŽIČ TURK, Nikita FAJT, Nataša MEHLE, Marina DERMASTIA, Irena MAVRIČ PLEŠKO Vrednotenje tolerantnosti sort in tipov mareljice na leptonekrozo koščičarjev (ESFY)	78
Matjaž JANČAR Bakterijski ožig aktinidije, <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>actinidiae</i> (Takikawa, Ichikawa, Serizawa, Tsuyumu in Goto) – Psa, prihajajoča nevarnost za slovensko sadjarstvo	84
Gabrijel SELJAK, Mojca ROT Preučevanje bionomije češpljeve bolšice (<i>Cacopsylla pruni</i>) na Primorskem	89
Domen BAJEC, Karmen RODIČ, Andreja PETERLIN Napovedovanje razvoja ameriškega kaparja (<i>Diaspidiotus perniciosus</i> Comst.)	96
Mario BJELIŠ, Luka POPOVIČ, Suzana DEAK, Ivana BULJUBAŠIČ, Ante IVANOVIČ, Pero ARNAUT, Rui PEREIRA Zatiranje breskove muhe (<i>Ceratitis capitata</i>) z metodo sterilnih žuželk (SIT) na več kot 4000 ha sadovnjakov v dolini reke Neretve	101
Mojca ROT, Gabrijel SELJAK Inventarizacija resarjev v cvetovih koščičarjev na Primorskem, potencialnih povzročiteljev porjavenja kože plodov	109
Jože MIKLAVC, Miro MEŠL, Boštjan MATKO, Anita SOLAR, Stanislav TRDAN Izkušnje z zatiranjem orehove muhe (<i>Rhagoletis completa</i> Cresson) v SV Sloveniji v letih 2011 in 2012	114
Domen BAJEC, Karmen RODIČ, Andreja BRENCE, Lucija LESKOVŠEK, Andreja PETERLIN Pojavnost rilčkarjev (Curculionidae) in naraščanje gospodarske škode v ekoloških sadnih nasadih	120
<u>Varstvo poljščin</u>	
Tanja DREO, Tina NAGLIČ, Matjaž PETERKA, Maja RAVNIKAR Karakterizacija slovenskih izolatov <i>Pectobacterium</i> in <i>Dickeya</i> spp. iz krompirja	125
Jana ERJAVEC, Tanja DREO, Jože BRZIN, Jerica SABOTIČ, Maja RAVNIKAR Naravne protimikrobne snovi in mikroorganizmi kot sredstva za varstvo rastlin	132
Igor ZIDARIČ, Peter DOLNIČAR, Gregor UREK Biotična učinkovitost nekaterih insekticidov za zatiranje strun iz rodu <i>Agriotes</i> v krompirju	138
Barbara GERIČ STARE, Saša ŠIRCA, Gregor UREK Ali smo pripravljeni na nove vrste ogorčic iz rodu <i>Globodera</i> ?	144
Žiga LAZNIK, Matej VIDRIH, Stanislav TRDAN Preučevanje učinkovitosti različnih biotičnih agensov za zatiranje ogrcev (Scarabaeidae) na travinju – izkušnje s Kočevskega	151
Stanislav TRDAN, Tanja BOHINC Preučevanje insekticidne učinkovitosti samostojne in kombinirane uporabe različnih naravnih snovi pri zatiranju črnega žitnega žužka (<i>Sitophilus granarius</i> [L.])	160
Karmen RODIČ, Domen BAJEC, Mateja ŠTEFANČIČ, Matej ŠTEFANČIČ, Peter ČEBOKLI Daljinsko zaznavanje s feromonsko vabo na zgledu koruzne vešče (<i>Ostrinia nubilalis</i> [Hübner])	168
Stanislav VAJS, Mario LEŠNIK, Jože MIKLAVC, Boštjan MATKO, Miroslav MEŠL, Marjeta MIKLAVC Rezultati preizkušanja herbicidov v koruzi v pridelovalni sezoni 2012	172

- Robert LESKOVŠEK, Andrej SIMONČIČ** Potencial različnih strniščnih dosevkov za zatiranje plevla 178
- Robert LESKOVŠEK, Andrej SIMONČIČ** Možnosti uporabe mehanskega zatiranja plevla in sistema reducirajoče obdelave v pridelovanju koruze 184

Splošna sekcija

- Vlasta KNAPIČ** Pomen obvladovanja vektorjev v epidemiologiji fitoplazemskih bolezni 190
- Matej ŠTEFANČIČ, Mateja ŠTEFANČIČ** Novosti pri daljinskem zaznavanju škodljivcev 201

Varstvo vinske trte

- Karmen RODIČ, Andreja PETERLIN, Lucija LESKOVŠEK, Domen BAJEC** Ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus* Ball) v vinorodni deželi Posavje 205
- Boštjan MATKO, Jože MIKLAVC, Miro MEŠL** Izkušnje z zatiranjem ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus* Ball) v obdobju 2008-2012 v severovzhodni Sloveniji 210
- Matej KNAPIČ, Rok RUTAR, Uroš ŽIBRAT** Uvajanje metode daljinskega zaznavanja pri nadzoru zlate trsne rumenice (Flavescence dorée) 216
- Domen BAJEC, Andreja PETERLIN, Karmen RODIČ, Lucija LESKOVŠEK** Epidemiologija antraknoze vinske trte s povzročiteljem *Elsinoë ampelina* (Shear) 222
- Stanislav VAJS, Mario LEŠNIK, Jože MIKLAVC, Boštjan MATKO, Miroslav MEŠL, Mojca PUŠNIK** Vpliv metode ocenjevanja stopnje okužbe pri določanju učinkovitosti fungicidov za zatiranje oidija vinske trte (*Uncinula necator*) 228
- Domen BAJEC, Karmen RODIČ, Andreja PETERLIN, Lucija LESKOVŠEK** Traheomikoze v vinogradih vinorodne dežele Posavje 235

Varstvo poljščin in okrasnih rastlin

- Jaka RAZINGER, Matthias LUTZ, Hans-Josef SCHROERS, Gregor UREK, Jürg GRUNDER** Laboratorijski poskusi entomopatogenih ali potencialno rast spodbujajočih gliv za zatiranje kapusove muhe (*Delia radicum* L.) in njihova rizosferna kompetenca 239
- Špela MODIČ, Meta URBANČIČ ZEMLJIČ, Metka ŽERJAV, Mojca ŠKOF, Kristina UGRINOVIČ, Jana BOLČIČ, Jaka RAZINGER** Spremljanje pojavljanja in možnosti napovedovanja kapusove muhe (*Delia radicum*) v Sloveniji 244
- Tanja BOHINC, Stanislav TRDAN** Je z mešanicami križnic kot privabilnimi rastlinami mogoče zmanjšati škodljivost kapusovih bolhačev (*Phyllotreta* spp.) na zelju? 250
- Ivan ŽEŽLINA, Primož PAJK, Branko CARLEVARIS** Izsledki ugotavljanja zastopanosti paradižnikovega molja (*Tuta absoluta* Povolny) v Sloveniji v obdobju 2009-2012 258
- Kristina UGRINOVIČ, Mojca ŠKOF, Metka ŽERJAV, Špela MODIČ, Jaka RAZINGER, Meta URBANČIČ-ZEMLJIČ** Varstvo kapusnic pred škodljivci – stanje, možnosti in izzivi v integrirani pridelavi v Sloveniji 266
- Tina NAGLIČ, Magda TUŠEK ŽNIDARIČ, Maja RAVNIKAR, Matjaž PETERKA, Tanja DREO** Bakteriofagi kot alternativni način zatiranja bolezni rastlin 273

Posterji

- Dušanka INDIČ, Slavica VUKOVIČ, Sonja GVOZDENAC, Tatjana KEREŠI, Snežana TANASKOVIČ** Možnost hitre detekcije občutljivosti koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) na insecticide 278
- Anka POŽENEL, Mojca BAVCON KRALJ, Mojca ROT, Ivan ŽEŽLINA, Jana ČUK, Branko CARLEVARIS** Prvi rezultati ulova poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.) s svetlobnimi in alkoholno-feromonskimi vabami 283
- Stanislav TRDAN, Nickolas G. KAVALLIERATOS, Theodoros STATHAKIS, Serge KREITER, Aleksandar STOJANOVIČ, Željko TOMANOVIČ, Tanja BOHINC** Prve najdbe treh vrst naravnih sovražnikov v Sloveniji: plenilske pršice *Neoseiulus californicus* (Arachnida, Acari, Phytoseiidae) in parazitoidnih os *Neochrysocharis formosus* (Insecta, Hymenoptera, Eulophidae) ter *Dibrachys microgastri* (Insecta, Hymenoptera: Pteromalidae) 286
- Žiga LAZNIK, Tanja BOHINC, Matej VIDRIH, Filip VUČAJNK, Sebastjan RADIŠEK, Stanislav TRDAN** Preučevanje učinkovitosti biofumigacije za zatiranje strun (*Agriotes* spp., Coleoptera, Elateridae) v krompirju 295
- Iris ŠKERBOT, Matej VIDRIH, Stanislav TRDAN** Hrošči iz družin pahljačnikov (Scarabaeidae) in lepenjcev (Chrysomelidae) – vse pomembnejši škodljivci travinja na območju Savinjske in Koroške statistične regije 303
- Andreja PETERLIN, Lucija LESKOVŠEK, Karmen RODIČ, Domen BAJEC** Vpliv varstvenih ukrepov proti koruznemu hrošču (*Diabrotica virgifera virgifera* [LeConte]) na gradacijo strun (Elateridae) in drugih talnih škodljivih vrst v pridelavi koruze 309
- Tanja BOHINC, Stanislav TRDAN** Insekticidno delovanje petih eteričnih olj na odrasle osebkke fižolarja (*Acanthoscelides obtectus* [Say], Coleoptera, Chrysomelidae) 313
- Žiga LAZNIK, Stanislav TRDAN** Morfološke karakteristike ogrcev s travinja, potrebne za hitro determinacijo 320
- Žiga LAZNIK, Stanislav TRDAN** Preučevanje kompatibilnosti izbranih insekticidov z entomopatogenimi ogorčicami (Nematoda: Rhabditida) 327
- Jaka RAZINGER, Matthias LUTZ, Hans-Josef SCHROERS, Gregor UREK, Jürg GRUNDER** Laboratorijski poskusi z entomopatogenimi glivami za zatiranje strun (*Agriotes* sp. L.) 334
- Jaka RAZINGER, Matthias LUTZ, Hans-Josef SCHROERS, Špela MODIC, Meta URBANČIČ ZEMLJIČ, Metka ŽERJAV, Kristina UGRINOVIČ, Mojca ŠKOF, Gregor UREK, Jürg GRUNDER** Poljski preskus varstva cvetače pred kapusovo muho (*Delia radicum* L.) z entomopatogenimi ali potencialno rast spodbujajočimi sevi gliv in določanje njihove rizosferne kompetence 339
- Melita ŠTRUKELJ, Irena MAVRIČ PLEŠKO, Mojca VIRŠČEK MARN, Jaka RAZINGER, Gregor UREK** Kaparji - prenašalci virusov vinske trte na Primorskem 344
- Igor ZIDARIČ, Jaka RAZINGER, Vojko ŠKERLAVAJ** Biotična učinkovitost insekticidov pri zatiranju ameriškega škržatka *Scaphoideus titanus* Ball (1932) v vinorodni deželi Dolenjska v letu 2011 in 2012 348
- Mladen ŠIMALA, Tatjana MASTEN MILEK** Prva najdba ščitkarja *Aleurocanthus spiniferus* Quaintance, 1903 (Hemiptera: Aleyrodidae), na Hrvaškem 354

- Jaka RAZINGER, Metka ŽERJAV, Špela MODIC** Ameriški klek v živih mejah je pogosto gostitelj južnega brinovega krasnika (*Ovalisia festiva* L.) v Sloveniji 359
- Tatjana MASTEN MILEK, Mladen ŠIMALA** Prvi najdbi palmovega rilčkarja, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) in palmovega vrtača, *Paysandisia archon* (Burmeister, 1880), na Hrvaškem 366
- Jasmina BAČIČ, Barbara GERIČ STARE, Saša ŠIRCA, Gregor UREK** Morfometrične in molekulske analize krompirjevih cistotvornih ogorčic iz Srbije 369
- Janja LAMOVŠEK, Barbara GERIČ STARE, Gregor UREK** Vpliv bakterije *Agrobacterium tumefaciens* na vstop ličink ogorčice *Meloidogyne ethiopica* v korenine gostiteljske rastline *in vitro* 373
- Polona STRAJNAR, Saša ŠIRCA, Dominik VODNIK, Barbara GERIČ STARE, Gregor UREK** Morfološke in fiziološke spremembe pri paradižniku po napadu ogorčice *Meloidogyne ethiopica* 378
- Mojca VIRŠČEK MARN, Irena MAVRIČ PLEŠKO** Raznolikost slovenskih izolatov PPV (*Plum pox virus*) 384
- Tina DEMŠAR, Špela KUBIK, Ana ROTTER, Maja RUPNIK, Maja RAVNIKAR** Vpliv rizosfernih bakterij na rast sadik paradižnika (*Solanum lycopersicum* L.) 391
- Alenka MUNDA, Barbara GERIČ STARE** Spremljanje gliv iz rodu *Monilinia* na cvetovih, listih in plodovih breskev in marelic z metodo PCR v realnem času 397
- Domen BAJEC, Andreja PETERLIN, Lucija LESKOVŠEK, Karmen RODIČ** Praktični vidik aerobiotičnih meritev izbruhov askospor jablanovega škrlupa (*Venturia inaequalis* [Cooke] Wint.) 401
- Maja MIKULIČ-PETKOVŠEK, Nika WEBER, Valentina SCHMITZER, Jerneja JAKOPIČ, Franci ŠTAMPAR, Darinka KORON, Alenka MUNDA, Robert VEBERIČ** Spremenjen primarni in sekundarni metabolizem jagod zaradi okužbe z glivo *Colletotrichum nymphaeae* (Pass.) AA 405
- Gabriella KAZINCZI, Ferenc PÁL-FÁM, Erzsébet NÁDASY, András TAKÁCS, József HORVÁTH** Alelopatija nekaterih pomembnih plevelov na Madžarskem 410
- Robert LESKOVŠEK, Silvo ŽVEPLAN, Andrej SIMONČIČ** Učinkovitost bioherbicidov ocetne in pelargonske kisline za zatiranje pelinolistne ambrozije (*Ambrosia artemisiifolia* L.) 416
- Stanislav TRDAN, Žiga LAZNIK** Prvi rezultati vzorčenja potencialnih naravnih sovražnikov japonskega dresnika (*Fallopia japonica* [Houtt.] Ronse Decraene) v Sloveniji 422
- Rok LENARČIČ, Polona KOGOVSŠEK, Maja RAVNIKAR** Razvoj hitrih in enostavnih diagnostičnih testov za določanje povzročiteljev rastlinskih bolezni na terenu 429
- Robert VEBERIČ, Ana SLATNAR, Maja MIKULIČ-PETKOVŠEK, Jerneja JAKOPIČ, Franci ŠTAMPAR, Franci BAVEC, Martina BAVEC** Vpliv načina gojenja na kemično sestavo fižola (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Top Crop) 434
- Filip VUČAJNK, Alojz SREŠ, Darja KOCJAN AČKO, Gregor LESKOŠEK, Matej VIDRIH, Stanislav TRDAN** Vpliv vozne hitrosti pri škropljenju s fungicidi na prekritost klasov ozimne pšenice 439
- Tomaž POJE** Tehnični ukrepi za zmanjšanje izpostavljenosti traktorista nevarnim snovem 444

Barbara GERIČ STARE, Peter DOLNIČAR, Irena MAVRIČ PLEŠKO, Vladimir MEGLIČ Vpliv izbire metode normalizacije podatkov pri analizi različno izraženih genov z mikromrežami	448
Sanja LAZIČ, Dragana ŠUNJKA, Nada GRAHOVAC, Snežana JAKŠIČ, Slavica VUKOVIČ Določanje dveh herbicidov v vodi iz drenažnih kanalov	454
<u>Prispevki sponzorjev</u>	
Drago MAJCEN, Primož STEPIC, Andrej KOS, Boris PARADŽIK PALLAS® 75 WG - novi herbicid za zatiranje plevelov v pšenici, rži in tritikali	459
Alojz SREŠ Proizvod, rešitev, uspeh - koncept in rezultati Bayerjevih poskusov na koruzi in pšenici	465
Istok MARIN ADENGO® – najnovejši herbicid za varstvo koruze	473
Damjan FINŠGAR Insekticidna mreža za zatiranje škodljivcev v gozdarstvu in skladiščih	476
Kazalo avtorjev	480
Logotipi sponzorjev	486

Content

Plenary lectures

- Jürg M. GRUNDER** Achievements and challenges in Swiss organic agriculture 1
- Bernd HOMMEL, Bernd FREIER, Jörn STRASSEMAYER, Wolfgang ZORNACH**
The 3rd German action plan on sustainable use of plant protection products – continuity and new challenges 6

Lectures on the roundtable of risks reduction in phyto-pharmaceutical products use

- Meta ZEMLJIČ URBANČIČ, Gregor UREK, Matej KNAPIČ, Vojko ŠKERLAVAJ, Andrej SIMONČIČ, Jolanda PERSOLJA, Magda RAK CIZEJ, Sebastjan RADIŠEK, Mario LEŠNIK** Analysis of the use of plant protection products in Slovenia 11
- Matej KNAPIČ, Gregor UREK, Meta ZEMLJIČ URBANČIČ, Vojko ŠKERLAVAJ, Andrej SIMONČIČ, Jolanda PERSOLJA, Magda RAK CIZEJ, Sebastjan RADIŠEK, Mario LEŠNIK** Comparison of the use of plant protection products in Slovenia and in selected European countries 16
- Gregor UREK, Matej KNAPIČ, Meta ZEMLJIČ URBANČIČ, Vojko ŠKERLAVAJ, Andrej SIMONČIČ, Jolanda PERSOLJA, Magda RAK CIZEJ, Sebastjan RADIŠEK, Mario LEŠNIK** The importance of indicators to monitor the use of pesticides 22
- Gregor UREK, Matej KNAPIČ, Meta ZEMLJIČ URBANČIČ, Vojko ŠKERLAVAJ, Andrej SIMONČIČ, Jolanda PERSOLJA, Magda RAK CIZEJ, Sebastjan RADIŠEK, Mario LEŠNIK** Possibilities and measures to reduce the risk due to the use of pesticides 27
- Peter KOZMUS, Andrej SIMONČIČ** Estimating the influence of different agricultural production areas on the appearance of pesticide residues in the bee products and their influence on the development and health of honey bees 33
- Franci Aco CELAR, Katarina KOS** The fungistatic effect of selected herbicides and fungicides on the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* 38

Protection of forest trees and other woody plants

- Metka Žerjav, Anita BENKO BELOGLAVEC** Ten years of *Phytophthora ramorum* survey in Slovenia 46
- Tine HAUPTMAN, Dušan JURC** Endangerment of ash species due to ash dieback in Slovenia 52
- Barbara PIŠKUR, Tine HAUPTMAN, Nikica OGRIS, Dušan JURC** Pine needle diseases in Slovenia, caused by fungi from the *Mycosphaerella* genus 57
- Nikica OGRIS** Short-term forecast for occurrence of strip-cankering of beech (*Biscogniauxia nummularia*) in Slovenia 62

Protection of fruit crops and berry crops

- Maja MIKULIČ-PETKOVŠEK, Valentina SCHMITZER, Franci ŠTAMPAR, Robert VEBERIČ, Darinka KORON** Changes in phenolic pattern due to raspberry spur and cane blight (*Didymella applanata* and *Leptosphaeria coniothyrium*) 69
- Manca PIRC, Tanja DREO** Selection of DNA extraction method for monitoring of biocontrol agent, *Gliocladium catenulatum* J1446 74

Barbara AMBROŽIČ TURK, Nikita FAJT, Nataša MEHLE, Marina DERMASTIA , Irena MAVRIČ PLEŠKO Tolerance assessment of different <i>Prunus armeniaca</i> cultivars to European stone fruit yellows phytoplasma	78
Matjaž JANČAR Bacterial canker of kiwi, <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>actinidiae</i> (Takikawa, Ichikawa, Serizawa, Tsuyumu in Goto) – Psa, the upcoming danger for Slovenian fruit production	84
Gabrijel SELJAK, Mojca ROT Study of bionomics of <i>Cacopsylla pruni</i> in the Primorska region	89
Domen BAJEC, Karmen RODIČ, Andreja PETERLIN Forecasting development of San Jose scale (<i>Diaspidiotus perniciosus</i> Comst.)	96
Mario BJELIŠ, Luka POPOVIČ, Suzana DEAK, Ivana BULJUBAŠIČ, Ante IVANOVIČ, Pero ARNAUT, Rui PEREIRA Suppression of Mediterranean fruit fly by sit over the 4000 ha of fruit orchards in Neretva river valley	101
Mojca ROT, Gabrijel SELJAK Thrips inventory in stone fruit flowers in Primorska region as a potential causers of fruit russeting	109
Jože MIKLAVC, Miro MEŠL, Boštjan MATKO, Anita SOLAR, Stanislav TRDAN Experiences with walnut husk fly (<i>Rhagoletis completa</i> Cresson) control in NE Slovenia in years 2011 and 2012	114
Domen BAJEC, Karmen RODIČ, Andreja BRENCE, Lucija LESKOVŠEK, Andreja PETERLIN Occurrence of weevils (Curculionidae) and rise of economic damage in ecological fruit plantations	120
<u>Protection of field crops</u>	
Tanja DREO, Tina NAGLIČ, Matjaž PETERKA, Maja RAVNIKAR Characterization of Slovenian <i>Pectobacterium</i> and <i>Dickeya</i> isolates from potato	125
Jana ERJAVEC, Tanja DREO, Jože BRZIN, Jerica SABOTIČ, Maja RAVNIKAR Antimicrobial substances from natural sources and microorganisms can be used for plant protection against pathogens	132
Igor ZIDARIČ, Peter DOLNIČAR, Gregor UREK The biological efficacy of some insecticides for suppression of <i>Agriotes</i> wireworms in potato	138
Barbara GERIČ STARE, Saša ŠIRCA, Gregor UREK Are we ready for the new nematode species of the <i>Globodera</i> genus?	144
Žiga LAZNIK, Matej VIDRIH, Stanislav TRDAN Testing the efficacy of different biological control agents against white grubs (Scarabaeidae) on grassland – experiences from Kočevje region	151
Stanislav TRDAN, Tanja BOHINC Research on insecticidal efficacy of single and combined use of different natural substances against the granary weevil (<i>Sitophilus granarius</i> L.)	160
Karmen RODIČ, Domen BAJEC, Mateja ŠTEFANČIČ, Matej ŠTEFANČIČ, Peter ČEBOKLI Remote sensing with pheromone trap on example of European corn borer (<i>Ostrinia nubilalis</i> [Hübner])	168
Stanislav VAJS, Mario LEŠNIK, Jože MIKLAVC, Boštjan MATKO, Miroslav MEŠL, Marjeta MIKLAVC Efficiency trials of herbicide mixtures for 2012 maize growing season	172
Robert LESKOVŠEK, Andrej SIMONČIČ Potential of various cover crops for weed suppression	178
Robert LESKOVŠEK, Andrej SIMONČIČ Implementation of mechanical weed control and reduced tillage system in maize production	184

General session

- Vlasta KNAPIČ** The importance of vector control in the epidemiology of phytoplasma diseases 190
Matej ŠTEFANČIČ, Mateja ŠTEFANČIČ Remote pest monitoring 201

Protection in viticulture

- Karmen RODIČ, Andreja PETERLIN, Lucija LESKOVŠEK, Domen BAJEC** American grapevine leafhopper (*Scaphoideus titanus* Ball) in wine growing region Posavje 205
Boštjan MATKO, Jože MIKLAVC, Miro MEŠL Experiences with controlling American grapevine leafhopper (*Scaphoideus titanus* Ball) in Northeastern Slovenia in the period 2008-2012 210
Matej KNAPIČ, Rok RUTAR, Uroš ŽIBRAT Application of remote sensing in grapevine yellows (Grapevine Flavescence dorée) control 216
Domen BAJEC, Andreja PETERLIN, Karmen RODIČ, Lucija LESKOVŠEK Epidemiology of grapevine anthracnose with pathogen *Elsinoë ampelina* (Shear) 222
Stanislav VAJS, Mario LEŠNIK, Jože MIKLAVC, Boštjan MATKO, Miroslav MEŠL, Mojca PUŠNIK Influence of the disease rate scouting method on the evaluation of efficacy of fungicides for control of grape wine powdery mildew (*Uncinula necator*) 228
Domen BAJEC, Karmen RODIČ, Andreja PETERLIN, Lucija LESKOVŠEK Tracheomycotic diseases in vineyards of wine growing region Posavje 235

Protection of vegetables and ornamental plants

- Jaka RAZINGER, Matthias LUTZ, Hans-Josef SCHROERS, Gregor UREK, Jürg GRUNDER** Laboratory bioassays of entomopathogenic or potentially plant growth promoting fungal strains for the control of cabbage root fly (*Delia radicum* L.) and their rhizosphere competence 239
Špela MODIČ, Meta URBANČIČ ZEMLJIČ, Metka ŽERJAV, Mojca ŠKOF, Kristina UGRINOVIČ, Jana BOLČIČ, Jaka RAZINGER Monitoring and forecasting possibility of the cabbage root fly (*Delia radicum*) in Slovenia 244
Tanja BOHINC, Stanislav TRDAN Is sowing mixtures of different *Brassica* species as trap crops effective against cabbage flea beetle (*Phyllotreta* spp.) attack to cabbage? 250
Ivan ŽEŽLINA, Primož PAJK, Branko CARLEVARIS The results of determining the occurrence of tomato leafminer (*Tuta absoluta* Povolny) in Slovenia in the period 2009-2012 258
Kristina UGRINOVIČ, Mojca ŠKOF, Metka ŽERJAV, Špela MODIČ, Jaka RAZINGER, Meta URBANČIČ-ZEMLJIČ Cole crops protection against insect pests – situation, possibilities and challenges in integrated production in Slovenia 266
Tina NAGLIČ, Magda TUŠEK ŽNIDARIČ, Maja RAVNIKAR, Matjaž PETERKA, Tanja DREO Bacteriophages as alternative control of plant diseases 273

Posters

- Dušana INDIČ, Slavica VUKOVIČ, Sonja GVOZDENAC, Tatjana KEREŠI, Snežana TANASKOVIČ** Possibility of quick detection of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) sensitivity to insecticides 278

- Anka POŽENEL, Mojca BAVCON KRALJ, Mojca ROT, Ivan ŽEŽLINA, Jana ČUK, Branko CARLEVARIS** First results of capturing the common cockchafer adults (*Melolontha melolontha* L.) using light traps and alcohol-pheromone traps 283
- Stanislav TRDAN, Nickolas G. KAVALLIERATOS, Theodoros STATHAKIS, Serge KREITER, Aleksandar STOJANOVIĆ, Željko TOMANOVIĆ, Tanja BOHINC** First records of three natural enemies in Slovenia: predatory mite *Neoseiulus californicus* (Arachnida, Acari, Phytoseiidae) and parasitoid wasps *Neochrysocharis formosus* (Insecta, Hymenoptera, Eulophidae) and *Dibrachys microgastri* (Insecta, Hymenoptera: Pteromalidae) 286
- Žiga LAZNIK, Tanja BOHINC, Matej VIDRIH, Filip VUČAJNK, Sebastjan RADIŠEK, Stanislav TRDAN** Research on the efficacy of biofumigation in controlling wireworms (*Agriotes* spp., Coleoptera, Elateridae) in potato 295
- Iris ŠKERBOT, Matej VIDRIH, Stanislav TRDAN** The beetles of the families Scarabaeidae and Chrysomelidae –important pests in grassland in Savinjska and Koroška statistical region 303
- Andreja PETERLIN, Lucija LESKOVŠEK, Karmen RODIČ, Domen BAJEC** Effect of plant protection measures against western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* [Le Conte]) on wireworms (Elateridae) gradation and other harmful soil species in corn production 309
- Tanja BOHINC, Stanislav TRDAN** Insecticidal efficacy of five essential oils against bean weevil (*Acanthoscelides obtectus*, Coleoptera, Chrysomelidae) adults 313
- Žiga LAZNIK, Stanislav TRDAN** Morphological characteristics of white grubs on grassland, important for quick determination 320
- Žiga LAZNIK, Stanislav TRDAN** Testing the compatibility of different insecticides with entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) 327
- Jaka RAZINGER, Matthias LUTZ, Hans-Josef SCHROERS, Gregor UREK, Jürg GRUNDER** Laboratory testing of entomopathogenic fungi for the control of wireworms (*Agriotes* sp. L.) 334
- Jaka RAZINGER, Matthias LUTZ, Hans-Josef SCHROERS, Špela MODIČ, Meta URBANČIČ ZEMLJIČ, Metka ŽERJAV, Kristina UGRINOVIĆ, Mojca ŠKOF, Gregor UREK, Jürg GRUNDER** Field testing of entomopathogenic or potentially plant growth promoting fungal strains for the control of Cabbage root fly (*Delia radicum* L.) and their rhizosphere competence 339
- Melita ŠTRUKELJ, Irena MAVRIČ PLEŠKO, Mojca VIRŠČEK MARN, Jaka RAZINGER, Gregor UREK** Scale insects - vectors of grapevine viruses in Primorska 344
- Igor ZIDARIČ, Jaka RAZINGER, Vojko ŠKERLAVAJ, Meta ZEMLJIČ URBANČIČ** Field efficacy evaluation of several insecticides against *Scaphoideus titanus* Ball (1932) in wine-growing region Posavje conducted in years 2011 and 2012 348
- Mladen ŠIMALA, Tatjana MASTEN MILEK** First record of the orange spiny whitefly, *Aleurocanthus spiniferus* Quaintance, 1903 (Hemiptera: Aleyrodidae) in Croatia 354
- Jaka RAZINGER, Metka ŽERJAV, Špela MODIČ** *Thuja occidentalis* L. is commonly a host for cypress jewel beetle (*Ovalisia festiva* L.) in Slovenia 359
- Tatjana MASTEN MILEK, Mladen ŠIMALA** First records of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) and palm borer, *Paysandisia archon* (Burmeister, 1880) in Croatia 366
- Jasmina BAČIĆ, Barbara GERIČ STARE, Saša ŠIRCA, Gregor UREK** Morphometric and molecular analysis of potato cyst nematodes from Serbia 369

Janja LAMOVŠEK, Barbara GERIČ STARE, Gregor UREK Penetration of <i>Meloidogyne ethiopica</i> juveniles into host plant roots affected by <i>Agrobacterium tumefaciens</i> <i>in vitro</i>	373
Polona STRAJNAR, Saša ŠIRCA, Dominik VODNIK, Barbara GERIČ STARE, Gregor UREK Morphological and physiological changes in tomato after <i>Meloidogyne ethiopica</i> nematode infestation	378
Mojca VIRŠČEK MARN, Irena MAVRIČ PLEŠKO Diversity of Slovene PPV (<i>Plum pox virus</i>) isolates	384
Tina DEMŠAR, Špela KUBIK, Ana ROTTER, Maja RUPNIK, Maja RAVNIKAR Effect of rhizobacteria on growth of tomato plants (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	391
Alenka MUNDA, Barbara GERIČ STARE Monitoring of <i>Monilinia</i> sp. on flowers, leaves and fruits of peach and apricot using real-time PCR	397
Domen BAJEC, Andreja PETERLIN, Lucija LESKOVŠEK, Karmen RODIČ Practical aspect of aerobiological apple scab (<i>Venturia inaequalis</i> [Cooke] Wint.) ascospore outbursts measurements	401
Maja MIKULIČ-PETKOVŠEK, Nika WEBER, Valentina SCHMITZER, Jerneja JAKOPIČ, Franci ŠTAMPAR, Darinka KORON, Alenka MUNDA, Robert VEBERIČ Influence of <i>Colletotrichum nymphaeae</i> (Pass.) AA infection on primary and secondary metabolites in strawberries	405
Gabriella KAZINCZI, Ferenc PÁL-FÁM, Erzsébet NÁDASY, András TAKÁCS, József HORVÁTH Allelopathy of some important weeds in Hungary	410
Robert LESKOVŠEK, Silvo ŽVEPLAN, Andrej SIMONČIČ Efficacy of bioherbicides acetic and pelargonic acid for common ragweed (<i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.) control	416
Stanislav TRDAN, Žiga LAZNIK First results on the monitoring of potential natural enemies of Japanese knotweed (<i>Fallopia japonica</i> [Houtt.] Ronse Decraene) in Slovenia	422
Rok LENARČIČ, Polona KOGOVŠEK, Maja RAVNIKAR Development of fast and simple diagnostic tests for field detection of plant pathogens	429
Robert VEBERIČ, Ana SLATNAR, Maja MIKULIČ-PETKOVŠEK, Jerneja JAKOPIČ, Franci ŠTAMPAR, Franci BAVEC, Martina BAVEC The influence of different production systems on chemical composition of dwarf French bean (<i>Phaseolus vulgaris</i> L. cv. Top Crop)	434
Filip VUČAJNK, Alojz SREŠ, Darja KOCJAN AČKO, Gregor LESKOŠEK, Matej VIDRIH, Stanislav TRDAN The effect of working speed on the fungicide spray deposition of winter wheat ears	439
Tomaž POJE Technical measures to reduce exposure of tractor driver to hazardous substances	444
Barbara GERIČ STARE, Peter DOLNIČAR, Irena MAVRIČ PLEŠKO, Vladimir MEGLIČ Influence of data normalization method in the analysis of differentially expressed genes with microarrays	448
Sanja LAZIČ, Dragana ŠUNJKA, Nada GRAHOVAC, Snežana JAKŠIČ, Slavica VUKOVIČ Determination of some pesticides in drainage water	454

Lectures presented by sponsors

Drago MAJCEN, Primož STEPIC, Andrej KOS, Boris PARADŽIK PALLAS® 75 WG – new herbicide for weedcontrol in wheat, rye and tritiale	459
Alojz SREŠ Product, solution, success: concept and results of Bayer's experiments on corn and wheat	465

Istok MARIN ADENGO® – new herbicid for maize protection	473
Damjan FINŠGAR Insecticidal fine-meshed net for controlling forest and stored timber pests	476
Index of authors	480
Sponsors logos	486

ACHIEVEMENTS AND CHALLENGES IN SWISS ORGANIC AGRICULTURE

Jürg M. GRUNDER¹

University of Applied Sciences, Wädenswil, Switzerland

ABSTRACT

Currently, there are 6300 organic farms in Switzerland, which manage 117'800 hectares biologically (Federal Statistical Office). That is 11% of the total agricultural area. Nearly 6,000 organic farms are a member of the Bio-Suisse. In 2006 in Switzerland Organic Products were implemented in a total of 1.2 billion francs. That's about 4.5 percent of the food market and corresponds to a consumption of 170 Swiss francs per person. This calculation shows, that Switzerland is world champion in the use of organic products. The organic market currently growing about twice as fast as the overall market. The principal benefit for organic farms is the label premium, i.e. the 15 - 50% higher prices that organic farmers earn for their products. Secondly, they benefit from the measurable progress in improving market access for the labeled products. The label "Suisse Garantie" specifies our bio -products. The label sets clear standards for production and processing and ensures a continuous, independent inspection and certification system. "Bio Suisse", a private-sector organization, is the federation of Swiss organic farmers. This umbrella organization counts 32 organic farmers' associations among its members, as well as the Research Institute of Organic Agriculture, FiBL."

1

Bio Suisse is standing for natural diversity on the organic farm, ethologically sound livestock management and feeding, no use of chemically synthesized pesticides or fertilizers, No use of genetic engineering, no use of unnecessary additives. The Swiss Research Institute of Organic Agriculture (FiBL) was founded in 1973 and is situated in Frick since 1997. It is one of the world's leading information and documentation center for organic agriculture and employs over 135 experts. The close links between different fields of research and the rapid transfer of knowledge from research to advisory work and agricultural practice are FiBL's strengths. Still, we found stagnation since 2009 of new farms changing to organic farming. There are some top problems in plant protection to be solved. Many trials have been conducted on resisting pests and diseases by promoting beneficial organisms, applying direct control measures, and improving cultivation techniques. New alternatives and achievements in the scientific research will be discussed.

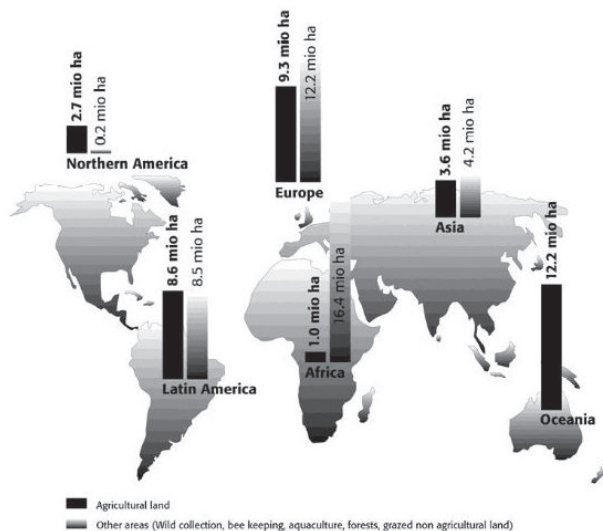
Key words: organic agriculture, Switzerland

Organic agriculture is based on: The principle of health - the principle of ecology – the principle of fairness - the principle of care (IFOAM, 2012).

There are 37.2 million hectares of organic agricultural land (including in-conversion areas) worldwide. The regions with the largest areas of organic agricultural land are Oceania (12.2 million hectares, 33 percent of the world's organic agricultural land) and Europe (10.6 million hectares, 29 percent). Latin America has 6.9 million hectares (18.4 percent) followed by Asia (3.7 million hectares, 10 percent), North America (2.8 million hectares, 7.5 percent) and Africa (1.1 million hectares, 3 percent). For the detailed results of the FiBL (Forschungsinstitut für Biologischen Landbau / Swiss Research Institute of Organic

¹ Prof. Dr., Grüental, CH-8820 Wädenswil

Agriculture) and IFOAM (*International Federation of Organic Agriculture Movements*) survey, The countries with the most organic agricultural land are Australia, 12 mio Ha (Willer, 2013).



2

Figure 1: Organic agricultural land and other organic areas / Source IFOAM, Survey 2011 (Willer, 2013).

Currently, there are 6300 organic farms in Switzerland, which manage 117'800 hectares biologically (Federal Statistical Office). That is 11% of the total agricultural area. Nearly 6,000 organic farms are a member of the Bio-Suisse. In 2006 in Switzerland Organic Products were implemented in a total of 1.2 billion francs. That's about 4.5 percent of the food market and corresponds to a consumption of 170 Swiss francs per person. This calculation shows that Switzerland is world champion in the use of organic products. The organic market currently is growing about twice as fast as the overall market. The principal benefit for organic farms is the label premium, i.e. the 15 - 50% higher prices that organic farmers earn for their products. Secondly, they benefit from the measurable progress in improving market access for the labeled products. The label "Suisse Garantie" specifies our bio-products. The label sets clear standards for production and processing and ensures a continuous, independent inspection and certification system. "Bio Suisse", a private-sector organization, is the federation of Swiss organic farmers. This umbrella organization counts 32 organic farmers' associations among its members, as well as the Research Institute of Organic Agriculture, FiBL."

Bio Suisse is standing for natural diversity on the organic farm, ethologically sound livestock management and feeding, no use of chemically synthesized pesticides or fertilizers, No use of genetic engineering, no use of unnecessary additives. The Swiss Research Institute of Organic Agriculture (FiBL) was founded in 1973 and is situated in Frick since 1997. It is one of the world's leading information and documentation center for organic agriculture and employs over 135 experts. The close links between different fields of research and the rapid transfer of knowledge from research to advisory work and agricultural practice are FiBL's strengths. Still, we found stagnation since 2009 of new farms changing to organic farming. But latest tendency shows up again. Many trials have been conducted on resisting pests and diseases by

promoting beneficial organisms, applying direct control measures, and improving cultivation techniques. New alternatives and achievements in the scientific research will be discussed.

FiBL (Forschungsinstitut für Biologischen Landbau / Swiss Research Institute of Organic Agriculture) is an independent, non-profit, Swiss research institute with the aim of advancing cutting-edge science in the field of organic agriculture. FiBL's research team works together with farmers to develop innovative and cost-effective solutions to boost agricultural productivity while never losing sight of environmental, health and socio-economic impacts. Alongside practical research, FiBL gives high priority to transferring knowledge into agricultural practice through advisory work, training and conferences. FiBL has offices in Switzerland, Germany and Austria and numerous projects and initiatives in Europe, Asia, Latin America and Africa. This year marks the 40th anniversary of FiBL, the Research Institute of Organic Agriculture.

Awareness of the environment has generally increased during the last couple of years, and has not failed to have an effect on agriculture. Farmers continuously face new demands requiring a more ecological approach to agriculture. This demand puts the farmers in a quandary: consumers ask for cheap foodstuffs, yet they require products to be produced in an ecological and animal-friendly manner. Furthermore, the taxpayer demands that state money ear-marked for agriculture be reserved to those farmers who produce as environmentally-friendly as possible. However, ecological production is not necessarily economically competitive. Therefore, a price has to be paid. Farmers seek to find a balance between economic viability and ecology.

Hardly any economic sector so often occupies the limelight of politics as agriculture. There is no other economic sector with its own Federal Office. A separate Agricultural Act and various ministerial orders regulate Swiss agriculture, and it is no accident that the agricultural sector, of all sectors, is so strongly regulated.

3

Agriculture controlled by the state with its fix prices and guaranteed delivery, soon led to overproduction and high costs resulting from surplus utilization. In the nineties, things changed fundamentally. Subsidies were replaced by direct payments, subject to certain requirements. Guaranteed delivery and fix prices gradually disappeared. Today, supply and demand determine the price. Farmers only receive financial support from the state if they meet the stringent conditions with regard to ecology and livestock rising. Thus, they are no longer simple producers of foodstuffs but bear a major responsibility for the maintenance of natural resources and cultivated areas. Modern agriculture will be heavily influenced by multi-functionality.

Agricultural policy remains a topic on the agenda of politicians. Increasing globalization and the EU market are further impending challenges Swiss agriculture must face.

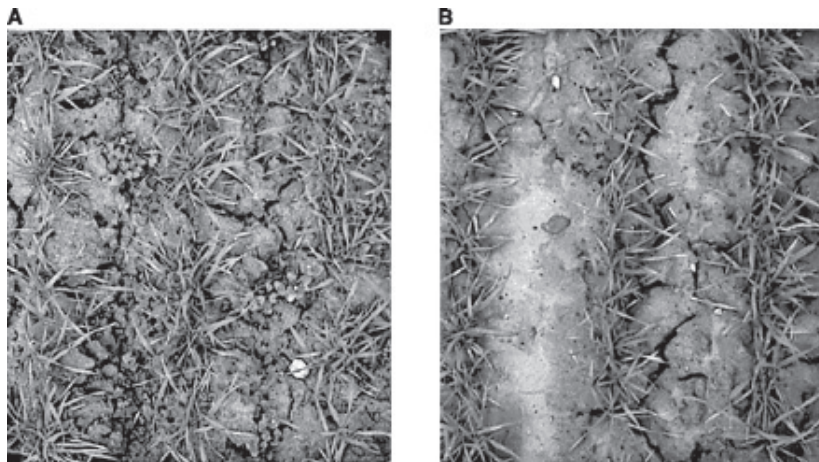
Today, ecology is a material component of the primary and continuing education of farmers. The general rule is to produce with less dependence upon chemical fertilizers, pesticides or concentrated feed, and thus reverting to an extensive agriculture. Switzerland was one of the pioneers in the field of environmentally-friendly production methods in agriculture and remains a leading example for other countries.

Challenges in Swiss agriculture; Soil Fertility

Intensive agriculture has increased crop yields but also posed severe environmental problems. Sustainable agriculture would ideally produce good crop yields with minimal impact on ecological factors such as soil fertility. A fertile soil provides essential nutrients for crop plant growth, supports a diverse and active biotic community, exhibits a typical soil structure, and allows for an undisturbed decomposition.

An understanding of agro ecosystems is key to determining effective farming systems. FiBL (Forschungsinstitut für Biologischen Landbau / Swiss Research Institute of Organic Agriculture) report results from a 21-year study of agronomic and ecological performance of

biodynamic, bioorganic, and conventional farming systems in Central Europe. Over the years they found crop yields to be 20% lower in the organic systems, although input of fertilizer and energy was reduced by 34 to 53% and pesticide input by 97%. Enhanced soil fertility and higher biodiversity found in organic plots may render these systems less dependent on external inputs.



4 Figure 2: Biodynamic (A) and conventional (B) soil surface in winter wheat plots. Earthworm casts and weed seedlings are more frequent in the biodynamic plot. Disaggregation of soil particles in the conventional plots leads to a smoother soil surface. Wheat row distance is 0.167 m. Source: T. Alföldi, (FiBL)].

Mycorrhizae as members of the soil community ameliorate plant mineral nutrition and contribute to soil aggregate formation. Root length colonized by mycorrhizae in organic farming systems was 40% higher than in conventional systems.

The mission of FiBL's International Division is to develop and promote sustainable agricultural and marketing systems in developing and transitional countries in order to improve the well-being of poor rural households and to increase overall access to sufficient amounts of good-quality, fairly-priced food. FiBL's International Division specializes in research and extension in developing and transitional countries to help them to develop organic sector and market. Division members collaborate with thematic FiBL experts in other divisions to meet the specific needs of various private and public organizations. They cooperate with companies, non-governmental organizations and governmental agencies in planning, analyzing and implementing interventions to foster sustainable food production and marketing. They work with local partners and, if necessary, help them to build their strategic and operational capacities thus making a real and lasting difference. FiBL also shares its expertise with its partners to develop the technical, analytical, and communication skills of local staff. With almost 40 years of experience with organic farming and market and sector development worldwide, FiBL's International Division is a strong, flexible and efficient project partner. The extensive in-house capacities mean that we can draw on a wide range of thematic expertise. Based on their own media and networking channels through which communicate about their activities and achievements in the following three main areas: 1. Sustainable Food Production – applied research and extension activities to foster environmentally-friendly, quality, agricultural production. 2. Strategic Market Development – developing and enhancing business opportunities through sound value chain interventions and creating public awareness. 3. Policy and Sector Development – functional support for

improved legal and institutional conditions to provide a supportive environment for organic farming and food.

Search for replacements of copper, plant extracts instead of copper

For nearly twenty years, scientists of FiBL have been searching for ways to dispense with the controversial use of copper in organic agriculture. A few years ago it seemed that the research potential had been exhausted. Now there is renewed hope in the form of extracts from plants and microorganisms, new testing systems and scientific partnerships. The use of copper as a pesticide goes way back: this metal has been in use in agriculture for more than 150 years, and for more than twenty years FiBL has been looking for ways to cut back on or even eliminate copper use. Copper accumulates in soil and exerts long-term negative impacts on soil life. "Because it is effective against many different fungal and bacterial pathogens, copper is an outstanding pesticide. It is as versatile as a Swiss army knife," says plant pathologist Lucius Tamm. "Hence replacing copper means more than just finding a new product, but also developing many control strategies for a wide variety of diseases."

A key strategy in potato, grape and apple production is resistant varieties in combination with specific pruning techniques and hygiene measures. FiBL has already done much research and development work in this area. With the help of forecasting systems and improved application technology, organic farmers were able to cut back on copper use and substantially improve yield security. In the search for substitute products as well, FiBL experts have been successful in introducing alternative materials based on clay or potassium bicarbonate on the market. Give up or start all over again. They tested every possible substance produced by industry and research institutions. None of the products fulfilled the demanding requirements of everyday practice. It is still like looking for a needle in a haystack, says Tamm. But meanwhile, we have developed a testing system at FiBL that enables us to screen hundreds of extracts methodically and quickly for efficacy against various diseases. The federal stimulus programme enabled us to make crucial investments in equipment." The methodical searching of "libraries", a standard practice in private pesticide research and development, is the exception rather than the rule in other research because there is hardly any public funding available for such efforts. Hence the support from the Coop Sustainability Fund is of tremendous importance to the development of alternatives to copper. In collaboration with the University of Basel, Lucius Tamm and his team have tested over 1600 different extracts to date. Whether the proverbial needle is among them remains to be seen, although some very interesting candidates have turned up. Meanwhile the search for a copper substitute continues on a European level as well, with FiBL participation. The aim of the "Co-Free" project started in early 2012 is to further develop potential replacements for copper.

Organic farming is evolving continuously, and markets are becoming ever more differentiated. Novel challenges include fiber crop production and aquaculture. Organic convenience products are gaining ground, placing major demands upon food processing technology. Moreover, the poverty and food insecurity prevailing in many parts of the world are a prime concern of the international community and a serious challenge to farmers, extension workers and scientists. Organic farming remains vibrant and challenging.

REFERENCES

- The IFOAM standard for organic production and processing. ISBN; 978-3-940946-99-7, 2012
Maeder P. et al., Soil Fertility and Biodiversity in Organic Farming. Science 31 May 2002: Vol. 296 no. 5573 pp. 1694-1697.
Willer H. The World of Organic Agriculture», FiBL, IFOAM, 1. Auflage, 344 Seiten, ISBN 978-3-03736-233-4, 2013.

THE 3RD GERMAN ACTION PLAN ON SUSTAINABLE USE OF PLANT PROTECTION PRODUCTS – CONTINUITY AND NEW CHALLENGES

Bernd HOMMEL¹, Bernd FREIER², Jörn STRASSEMEYER³, Wolfgang ZORNBACH⁴

^{1,2,3} Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants (JKI), Institute for Strategies and Technology Assessment, Kleinmachnow, Germany

⁴ Federal Ministry of Food, Agriculture and Consumer Protection (BMELV), Plant Protection Division, Bonn, Germany

ABSTRACT

6 The EU requirements concerning plant protection have been supplemented by comprehensive national regulations. The core element of integrated plant protection, namely the reduction of risks to human health and the environment, is already addressed by the strict requirements for approval and proper use of a plant protection product (PPP). The main quantitative targets of the national action plan implemented 2008 are: (i) to reduce the risks that may arise from PPPs by 25% compared to baseline (1996 to 2005) by 2020, and (ii) to reduce the rate of exceeding maximum residue levels (MRLs) in domestic and imported food to less than 1% in each product group by 2021. The current results are published in the triannual report for the years 2008 to 2011 (with a 6-pages summary in English; www.nap-pflanzenschutz.de). Those obligatory and voluntary provisions ensure that the key target of reducing the risks associated with PPPs will be achieved. Important elements are applied research and demonstration mainly based on federal programs, resistant cultivars, biological and biotechnical control, decision support systems, thresholds, certification and inspection of sprayers, training, control schemes, incentives and efficient advisory services. Key technical tools of the action plan are networks of reference farms and demonstration farms. Both networks are valuable sources of robust data about plant protection in Germany. Furthermore, integrated plant protection is strongly driven by crop- or sector-specific guidelines which are mainly developed, implemented and controlled by producer associations. Based on the subsequent input from the federal states and interested groups and associations, the new action plan will come into force in spring 2013.

Keywords: Germany, MRLs, national action plan, reference farms, risk indicator

1 INTRODUCTION

In Germany, the use of plant protection products (PPPs) is regulated exhaustively, providing a high level of security and protection. The authorisation procedure for PPPs and legal provisions and licensing requirements governing their supply and usage are key pieces of legislation with which manufacturers, distributors, users, advisers and authorities must comply, as specified in plant protection law and other areas of law related to plant protection. Therefore, the two national action plans (NAP) since 2005 have aimed, in particular, at further reducing the risks associated with the use of PPPs, at reducing misuses and unnecessary usage, and at reducing the dependence of farmers on chemical PPPs. The second action plan from 2008 has two quantitative goals (Anonymous 2008): reduce the risks that may arise from

¹ Dr., Stahnsdorfer Damm 81, DE-14532 Kleinmachnow, Germany, e-mail: bernd.hommel@jki.bund.de

² Prof. Dr., *ibid.*

³ Dr., *ibid.*

⁴ Dr., Rochusstr. 1, D-53123 Bonn

PPPs by 25% as compared to baseline (1996 to 2005), and reduce the rate of maximum residue levels (MRLs) exceeding for PPPs in domestic and imported food to less than 1% by 2021. Key measures are: applied research and demonstration, resistant cultivars, biological control, decision support systems, thresholds, inspection of sprayers, training, control schemes, incentives, and efficient advisory services.

Historically, the first German action plan in 2005 was triggered mainly by changes in consumer purchase behaviour since the BSE crisis (e.g. more demand for organic food), and policy-environment changes (e.g. the Green Party entered the federal government from 1998 to 2005, and several state governments since 1990s). But, nevertheless, a national action plan has to consider that use of PPPs is an important tool for farmers to protect crop health and productivity, to help keep farms profitable and to ensure the high intensity in crop production. This requirement is consistent with article 4 of the sustainable use directive 2009/128/EC: "... Member States shall take account of the health, social, economic and environmental impacts of the measures ...".

Table 1. Use of reduced application rates as mean of 2007 to 2011 (Freier *et al.*, 2012)

Crop	Herbicides	Fungicides	Insecticides
Winter wheat	70% ±3,6%	58% ±1,5%	91% ±3,4%
Winter barley	67% ±4,7%	54% ±1,7%	93% ±2,0%
Winter oilseed rape	74% ±0,9%	85% ±3,7%	99% ±1,8%

7

In Germany, 27.000 to 35.000 tonnes of active ingredients of PPPs have been sold annually since 1994 with an increase over the years, in spite of two action plans since 2005. This slight positive slope has particularly been caused by strong decline of fallow land, continuous increase of low tillage systems (more glyphosate needed), more early sowing fields, new harmful organisms, and application of resistance strategies. Overall, PPP resistances have appeared more frequently in recent years which has contributed to the reluctance of farmers and advisors against the use of reduced dose rates (table 1), and sticking to the schemes of efficient resistance strategies, i.e. the use of full dose rates and a variation of modes of action. Variation in annual sales of PPPs is also influenced by weather conditions and price fluctuations.

2 DEFINITION OF TERMS

Integrated plant protection (IPP) was firstly announced in legal documents as an overall concept in Germany's plant protection act of 1986. The definition has not changed to date: *IPP is a combination of measures - with priority consideration of biological and biotechnical measures, resistant cultivars, and cropping and cultural control measures - where the use of chemical plant protection products is restricted to the necessary minimum.* IPP is divided into general principles and crop- or sector-specific guidelines. Whereas general principles describe rules for decision making in plant protection as scope of action, crop- or sector-specific guidelines contain a detailed set of different measures. Their voluntary implementation needs support. IPP guidelines can also contain further measures beyond plant protection, such as elements of conservation of biodiversity.

The treatment frequency index (TFI) is used as indicator of intensity of PPP uses. It considers dose reduction in proportion to the authorised one and partial field application of each PPP. For example, authorised dose in entire field means a TFI of 1,0, half dose in entire field 0,5

and half dose in half field 0,25. In tank mixtures, PPPs are separately counted. The TFI in main crops is determined with robust statistical surveys since the year 2000 and with data from the network of reference farms since 2007 (table 2).

Table 2: Treatment frequency indexes (TFI) in main crops in reference farms in the period 2007 to 2011 (Freier *et al.*, 2012)

Crop	Herbicides	Fungicides	Insecticides
Winter wheat	1,90 ±0,10	1,96 ±0,15	1,02 ±0,15
Winter barley	1,64 ±0,09	1,28 ±0,11	0,52 ±0,27
Winter oilseed rape	1,70 ±0,10	0,82 ±0,19	2,66 ±0,35

The necessary minimum in plant protection is the term used to describe the amount of PPPs needed to ensure crops are successful, not least as regards their economic viability. It assumes that all other practicable options to prevent and deter harmful organisms have been exhausted and that consumer, environment and user protection provisions have been adequately taken into account. The necessary minimum is determined on a regional base with data from the network of reference farms since 2007 (table 3).

Table 3: The necessary minimum in use of PPPs in reference farms (Freier *et al.*, 2012)

Crop	2007	2008	2009	2010	2011
Winter wheat	88,7 %	85,8 %	89,8 %	89,2%	91,8%
Winter barley	94,8 %	84,9 %	86,0 %	90,6%	93,8%
Winter oilseed rape	87,7 %	81,8 %	87,4 %	89,3%	91,4%
Field vegetables	83,4 %	89,8 %	86,7 %	87,3%	94,4%
Apples	94,5 %	94,6 %	91,7 %	95,3%	95,7%
Grapes	99,5 %	95,5 %	98,3 %	97,5%	96,0%
Hops	100 %	96,6 %	98,8 %	82,5%	94,0%

The key risk indicator in the action plan is SYNOPS (an acronym of: synoptic assessment of risk potential of chemical plant protection products). SYNOPS considers 2 aquatic and 3 terrestrial organisms in each PPP group (insecticides, fungicides, herbicides). There are 3 different types available: SYNOPS-Trend to assure tracking of risk trends and risk development on a national level; SYNOPS-GIS for regional risk analysis and provisional detection of hot-spots based on surveys on PPPs and extended GIS datasets on land use, slope, soil types, and climate; SYNOPS-WEB to compare PPP use strategies under real farm conditions. This online platform can be used by researchers, farmers or advisers.

3 THE NEW GERMAN ACTION PLAN

The 3rd German action plan expected in spring 2013 will be based mainly on the previous plan from 2008. Since 2009, there was a broad debate between federal ministries and agencies,

state ministries and plant protection services, and non-governmental stakeholder groups. The NAP will be modified and more specific: overall risk reduction by 30% with the reference period 1996 to 2005 by 2023, more integrated plant protection and organic farming with at least 20% organic fields and at least 50% farms that have implemented crop- or sector-specific IPP guidelines, restriction of PPP uses on the necessary minimum with at least 95% of all treatments, improvements in safe use of PPPs, reduction of exceeding of maximum residue limits (MRLs) with less than 1% until 2021, less impacts on biodiversity through more ecological infrastructures, and efficient water protection with fixed buffer zones (at least 5m) in specific areas. The possibility to expand buffer zones will be discussed. To reach these aims, measures are focused on applied research and demonstration, resistant cultivars, biological and biotechnical control, decision support systems, thresholds, certification and inspection of sprayers, training, and control schemes, incentives and efficient advisory services. In many cases, majority of these measures will be implemented through crop- or sector-specific guidelines of integrated plant protection. Progress of the action plan will be measured with a set of 28 indicators.

4 RESULTS OF THE 2ND ACTION PLAN STARTED 2008

In 2011, 11 out of the 15 aquatic and terrestrial SYNOPS risk indexes had already reached the target of being no higher than 75% of baseline (in 2010 12 out of 15). The rate of meeting the target was therefore in 2011 about 73% (www.nap-pflanzenschutz.de).

The extent of the necessary minimum was determined by specific regional factors related to pest occurrence, and the pest control measures taken were selective and moderate in extent (table 3). From 2007 to 2011, 45.000 data sets were investigated. In 2011, PPP treatments in 762 fields on 85 arable cropping farms, 73 fields on 24 vegetable producing farms (cabbage, carrots, asparagus, onion), 57 apple orchards on 16 fruit farms, 27 vineyards on 9 viticulture farms, and 18 hop yards on 6 hop farms could be analyzed.

PPP residues and relevant metabolites in drinking water (0,1µg/l) were met at 95,4% of all measuring points in the ground water network during the last assessment period 2006 to 2008. The development since the period 1990 to 1995 is positive (table 4).

Table 4: Frequency scale of PPP findings in groundwater based on surface-close filtrated sampling sites (Hommel 2012)

PPP findings	1990 - 1995	1996 - 2000	2001 - 2005	2006 - 2008
Without findings	71,7 %	72,4 %	78,6 %	82,6 %
Detected ≤ 0,1µg/l	18,6 %	19,0 %	16,1 %	12,8 %
Detected >0,1-1µg/l	8,6 %	7,9 %	4,5 %	3,8 %
Detected > 1µg/l	1,1 %	0,7 %	0,8 %	0,8 %
Total > 0,1µg/l	9,7 %	8,6 %	5,3 %	4,6 %

Collection of maximum residue levels (MRLs) and evaluation of appropriate data needed to determine how well the target of reducing the rate of non-compliance with MRLs for PPPs in food had been met was possible for the first time in 2009. In order to make statements regarding non-compliance rates in the individual product groups, data on all products in the respective group must be considered. Currently available results of MRLs have shown that

exceedance in domestically produced food is less than 1%, in imports from the EU below 2%, and in imports from 3rd countries about 3% (Hommel 2012).

5 CONCLUSION

The national action plan started in 2008 has contained already aspects of the sustainable use directive 2009/128/EC. There was only a revision needed. Broad public debates and stakeholder participation (through conferences, workshops, temporarily installed working groups) have taken place since 2002. There was a need to strengthen advisory services, field experiments and research. Partners agreed to focus on voluntary initiatives instead of regulatory rules. Data acquisition and indicators are considered as important tools to measure progress of the action plan. A network of reference farms since 2007 has supported data acquisition and decision making. Installation of demonstration farms to spread knowledge in IPM has started in 2010. Outcome information is incorporated in regular training of farmers, advisers and trainers. The permanent “Forum of the action plan” where all stakeholders are represented is continued. Transparency and dissemination of information will be improved (e.g. via www.nap-pflanzenschutz.de, newsletter).

6 REFERENCES

- Anonymous 2008. National Action Plan on Sustainable Use of Plant Protection Products. Federal Ministry of Food, Agriculture and Consumer Protection Bonn.
http://www.nap-pflanzenschutz.de/fileadmin/SITE_MASTER/content/Dokumente/Startseite/NAP2008_eng.pdf. Accessed 25 March 2012.
- Freier, B., Sellmann, J., Strassemeyer, J., Schwarz, J., Klocke, B., Moll, E., Gutsche, V., Zornbach, W. 2011. Netz Vergleichsbetriebe Pflanzenschutz. Jahresbericht 2011. Analyse der Ergebnisse der Jahre 2007 bis 2011. Berichte aus dem Julius Kühn-Institut, 166, 104 pp.
- Hommel, B. 2012. Dreijahresbericht zum nationalen Aktionsplan zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln. Berichte aus dem Julius Kühn-Institut, Heft 165, 162 pp.

ANALIZA STANJA RABE FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV V SLOVENIJI

Meta URBANČIČ ZEMLJIČ¹, Gregor UREK², Matej KNAPIČ³, Vojko ŠKERLAVAJ⁴,
Andrej SIMONČIČ⁵, Jolanda PERSOLJA⁶, Magda RAK CIZEJ⁷, Sebastjan RADIŠEK⁸,
Mario LEŠNIK⁹

¹⁻⁵Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

⁶⁻⁸Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec

⁹Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Pivola

IZVLEČEK

V prispevku predstavljamo rezultate raziskave o rabi fitofarmaceutskih sredstev (FFS) v Sloveniji. Analiza temelji na obdelavi anketnih odgovorov in strokovne ocene izvajalcev projekta. Škropilni programi za leti 2009 in 2010, ki smo jih dobili od kmetijskih pridelovalcev (poljedelci, zelenjadarji, sadjarji, vinogradniki) predstavljajo orientacijske vrednosti rabe FFS. S pomočjo baze podatkov o subvencioniranju kmetijske pridelave smo opredelili obseg posamezne pridelave in tudi večje in manjše pridelovalce, kot kazalnik intenzivnosti rabe FFS. Pri pridelavi poljščin in vrtnin smo glede na pridobljene podatke ocenili, da raba FFS v povprečju bistveno ne odstopa od priporočil stroke, čeprav so razlike med pridelovalci precejšnje. V trajnih nasadih so razlike v rabi FFS večje, v povprečju je raba dokaj intenzivna.

11

Gljučne besede: fitofarmaceutska sredstva, poljščine, vrtnine, trajni nasadi, Slovenija

ABSTRACT

ANALYSIS OF THE USE OF PLANT PROTECTION PRODUCTS IN SLOVENIA

The analysis of the use of Plant Protection Products (PPP) in Slovenia is presented in the article. The results are based on the data, collected by questionnaire and evaluated by the experts of the project team. The questionnaires were sent to the farmers, producers of field, vegetable, fruit and wine crops. The spray programmes for the years 2009 and 2010 were acquired. The database of agricultural subsidies was used to determine the crops produced and also to categorize the farms as more or less intensive. The intensity of PPP use for single crops was evaluated. Based on the analyses, the average use of PPP in field crops and vegetable is not essentially different from professional recommendations although the differences between farmers are considerable. The differences in PPP use in perennial crops are substantial and the use on average is quite intensive.

Key words: plant protection products, arable crops, vegetable, perennial crops, Slovenia

¹ univ. dipl. inž. agr., Hacquetova 17, SI-1001 Ljubljana

² doc. dr., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁵ doc. dr., prav tam

⁶ mag. univ. dipl. inž. agr., Cesta Žalskega Tabora 2, SI-3310 Žalec

⁷ dr., prav tam

⁸ dr., prav tam

⁹ prof. dr., Pivola 10, Hoče

1 UVOD

V prispevku je predstavljen del rezultatov raziskave, ki smo jo opravili v okviru Ciljnega raziskovalnega projekta z naslovom »Raba fitofarmaceutskih sredstev in preučitev možnosti za njihovo racionalnejšo uporabo v Sloveniji«, v katerem so bila izdelana izhodišča za pripravo nacionalnega akcijskega programa (NAP) za doseganje trajnostne rabe fitofarmaceutskih sredstev v Sloveniji. Cilj NAP-a je zmanjšanje tveganja in vpliva zaradi rabe fitofarmaceutskih sredstev (FFS) na zdravje ljudi in okolje, Slovenijo pa k njegovi pripravi zavezuje evropska zakonodaja.

V prvem delu raziskave smo skušali ugotoviti dejansko porabo FFS po različnih področjih pridelave oz. po kmetijskih rastlinah, saj podatkov o tem v Sloveniji nimamo. Znane so samo skupne količine prodanih aktivnih snovi, ki jih vsako leto posredujejo dobavitelji FFS, kar pa ne daje dejanske slike o intenzivnosti rabe po področjih oz. po kmetijskih rastlinah. Brez takih podatkov pa ni mogoče realno oceniti kje in na kakšen način bo možno v prihodnje zmanjšati porabo FFS oz. s tem povezana tveganja.

2 MATERIAL IN METODE

Intenzivnost rabe FFS po različnih področjih kmetijske pridelave smo ocenili s pomočjo ankete, ki smo jo izvedli med pridelovalci poljščin, vrtnin, sadja in vinske trte iz različnih območij Slovenije. Temeljila je na prostovoljnem sodelovanju pridelovalcev, ki smo jih spraševali o rabi FFS in drugih ukrepih varstva rastlin v letih 2009 in 2010. Naš cilj je bil dobiti čim bolj realne podatke iz prakse in na njihovi podlagi izvesti analize in ocene. Odziv pridelovalcev na ankete je bil nekoliko pod našimi pričakovanji, zato so ocene narejene na manjšem številu podatkov kot bi si želeli. Ker so bili podatki slabi smo iskali informacije še drugje, z razgovori s tehnologi, pridelovalci, svetovalci. Pri opredelitvi obsega posamezne vrste in tudi intenzivnosti pridelave smo si pomagali z bazo podatkov o subvencioniranju kmetijske pridelave za leto 2009.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Rezultat raziskave so ocene porabe aktivnih snovi FFS pri pridelavi izbranih kmetijskih rastlin. Ocene temeljijo na rezultatih anket, na podatkih o intenzivnosti pridelave iz subvencijskih vlog za leto 2009 ter na ekspertni oceni sodelujočih v raziskavi. V prispevku so predstavljene ocene porabe FFS pri intenzivni pridelavi nekaterih kmetijskih rastlin.

3.1 Krompir

Po podatkih iz subvencijskih vlog je bilo v letu 2009 v Sloveniji s krompirjem posajenih okoli 3400 ha njiv. V skupino večjih pridelovalcev krompirja smo uvrstili tiste, ki so pridelovali jedilni ali semenski krompir na površinah večjih od 0,25 ha, takih njiv je bilo približno 50 %. Pri teh pridelovalcih je pridelava krompirja, vključno z rabo FFS, večinoma intenzivna. Največ pozornosti namenjajo zatiranju krompirjeve plesni in črne listne pegavosti, proti katerima opravijo na leto od 4 do 7 škropljenj. Enkrat (redko dvakrat) uporabijo insekticid proti koloradskemu hrošču, velik delež pridelovalcev pa uporablja tudi talni insekticid za zatiranje strun, ki so v zadnjih letih naraščajoč problem. V povprečju so intenzivni pridelovalci krompirja v raziskavi rabili insekticid 1,7 krat. Herbicid so uporabili enkrat proti plevelom, večinoma pa so izvajali tudi kemično uničenje krompirjevke. Pri pridelavi jedilnega krompirja so krompirjevko uničevali enkrat, pri semenski pridelavi pa tudi dvakrat ali trikrat z nižjim odmerkom herbicida.

Preglednica 1: Ocena skupne porabe FFS pri intenzivni pridelavi krompirja

	Št. škropljenj	Povprečje	Povprečna poraba a.s. v kg/ha/škropljenje	Poraba a.s. v kg/ha
Fungicidi	4 do 7	5,5	1,24	6,8
Insekticidi	1 do 2	1,7	0,05	0,09
Herbicidi	1 do 4	1,2	1,8	3,1
Skupna poraba a.s./ha				10

Najpogosteje uporabljen fungicid v krompirju je bil mankozeb, ki je bil sam ali v kombiniranih pripravkih uporabljen v četrtini vseh škropljenj, zajetih v raziskavo. Najpogosteje uporabljen insekticid je bil tiametoksam, uporabljen je bil v več kot tretjini vseh škropljenj z insekticidi, takoj za njim je bil teflutrin za zatiranje strun.

3.2 Pšenica

Pšenico pridelujemo v Sloveniji na skupno nekaj več kot 53 000 ha njiv. Večji delež (preko 47 000 ha) so njive, večje od 1 ha, kjer se pšenica v glavnem prideluje na intenziven način, vključno z varstvom pred boleznimi, škodljivci in pleveli. Sodeč po dobljenih podatkih (obdelali smo 27 škropljenih programov) je pri intenzivni pridelavi varovanje posevkov pred boleznimi s fungicidi reden ukrep, pridelovalci ga izvajajo v glavnem z dvema škropljenjema, tretje škropljenje proti fuzarijskim okužbam klasov se redkeje izvaja. Med redne ukrepe pri najbolj intenzivni pridelavi pšenice sodi tudi enkratno škropljenje z insekticidom proti žitnemu strgaču in listnim ušem, manjši tržni pridelovalci izvajajo to škropljenje le občasno. Tudi zatiranje plevelov s herbicidi je pri intenzivni pridelavi reden ukrep, večinoma gre za enkratno škropljenje, pri tem pa uporabijo en pripravek ali kombinacijo dveh pripravkov. Skupna količina porabljenih aktivnih snovi pri intenzivni pridelavi pšenice je v povprečju okoli 1 kg/ha. Podobno stanje je pri ječmenu, kjer je skupna povprečna raba 0,9 kg a.s./ha.

Preglednica 2: Ocena skupne porabe FFS pri intenzivni pridelavi pšenice

	Št. škropljenj	Povprečno št. škropljenj	Povprečna poraba a.s. v kg/ha/škropljenje	Poraba a.s. v kg/ha
Fungicidi	1 do 3	1,78	0,32	0,57
Insekticidi	0 do 1	0,52	0,007	0,004
Herbicidi	0 do 2	1,08	0,47	0,51
Skupna poraba a.s./ha				1

Najpogosteje uporabljena FFS pri intenzivni pridelavi pšenice so bili fungicidi iz skupine triazolov (ciprokonazol je bil uporabljen v 24 % škropljenj, propikonazol v 19 % škropljenj) in strobilurinov (azoksistrobin je bil uporabljen v 17 % škropljenj). Med herbicidi so pridelovalci pšenice najpogosteje uporabili različne snovi iz skupine sulfonil sečninskih herbicidov (jodosulfuron-metil natrij so uporabili v 38 % škropljenj, amidosulfuron v 22 % in triasulfuron v 12 % škropljenj). Med uporabljenimi insekticidi pa je prevladoval lambda cihalotrin, ki je bil uporabljen v 69 % vseh škropljenj z insekticidi, vključenimi v raziskavo.

3.3 Vrtnine

Podatkov o površinah za posamezne vrste vrtnin iz baze subvencijskih vlog nismo mogli dobiti, zato smo uporabili podatke iz Statističnega letopisa Slovenije. Po teh podatkih smo v Sloveniji leta 2009 pridelovali solato na 461 ha, od tega je bilo 186 ha tržne pridelave. Podatke o rabi FFS v solati v letih 2009 in 2010 smo dobili z obdelavo 32 škropljenih programov iz 17 anket. Tržni pridelovalci solate so v obeh letih uporabljali fungicide od 0 do

3 krat, v povprečju je bila solata s fungicidi škropljena 0,78-krat. Pri tem so v povprečju porabili 1,23 kg a.s./ha/škropljenje. Z insekticidi so solato v povprečju škropili 0,97-krat in s herbicidi 1,2 krat. Skupna poraba a.s. na hektar je bila skoraj 3 kg.

Preglednica 3: Ocena skupne porabe FFS pri intenzivni pridelavi solate

	Št. škropljenj	Povprečno št. škropljenj	Povprečna poraba a.s. v kg/ha/škropljenje	Poraba a.s. v kg/ha/sezono
Fungicidi	0 do 3	0,78	1,23	0,96
Insekticidi	0 do 2	0,97	0,07	0,07
Herbicidi	1 do 3	1,2	1,54	1,85
Skupna poraba a.s./ha				2,88

Pri pridelavi zelja se najpogosteje izvajajo ukrepi za zatiranje škodljivcev. Glede na dobljene podatke (29 škropilnih programov iz let 2009 in 2010) so pridelovalci škropili zelje z insekticidom v povprečju 1,62 krat in ob tem porabili 0,02 kg a.s./ha/škropljenje. S fungicidi so škropili zelje 0,58-krat in s herbicidi v povprečju 0,86-krat.

Preglednica 4: Ocena skupne porabe FFS pri intenzivni pridelavi zelja

	Št. škropljenj	Povprečno št. škropljenj	Povprečna poraba a.s. v kg/ha/škropljenje	Poraba a.s. v kg/ha/sezono
Fungicidi	0 do 2	0,58	0,91	0,53
Insekticidi	0 do 3	1,62	0,02	0,03
Herbicidi	1 do 2	0,86	1,08	0,93
Skupna poraba a.s./ha				1,49

14

Podatke o rabi FFS pri tržni pridelavi paprike v letih 2009 in 2010 smo dobili z obdelavo 36 škropilnih shem. Fungicide so pridelovalci uporabljali v povprečju nekaj manj kot enkrat, insekticide 1,36 krat, herbicide je uporabljalo le 11 % anketirancev, ki so površine škropili po enkrat. Skupna poraba a.s. pri pridelavi paprike je bila 0,9 kg /ha.

Pri paradižniku je bila raba fungicidov in insekticidov nekoliko bolj intenzivna v primerjavi s papriko, medtem ko herbicidov pri pridelavi paradižnika niso rabili. Skupna poraba a.s./ha je bila 2,6 kg. Najpogosteje uporabljena fungicida v paradižniku sta bila metalaksil in mankozeb (uprabljena sta bila v 22,5 % škropljenj), v papriki pa azoksistrobin (uprabljen v skoraj 29 % škropljenj) in propamokarb (uprabljen v 24 % škropljenj). Med insekticidi so bile najpogosteje uporabljene snovi tiametoksam, imidakloprid in abamektin. Samo eden od dvajsetih vprašanih pridelovalcev paradižnika uporablja tudi naravne sovražnike za zatiranje škodljivcev.

Preglednica 5: Ocena skupne porabe FFS pri intenzivni pridelavi paprike

	Št. škropljenj	Povprečno št. škropljenj	Povprečna poraba a.s. v kg/ha/škropljenje	Poraba a.s. v kg/ha/sezono
Fungicidi	0 do 3	0,86	0,95	0,82
Insekticidi	0 do 3	1,36	0,06	0,08
Herbicidi	0 do 1	0,11	0,59	0,10
Skupna poraba a.s./ha				1,0

Preglednica 6: Ocena skupne porabe FFS pri intenzivni pridelavi paradižnika

	Št. škropljenj	Povprečno št. škropljenj	Povprečna poraba a.s. v kg/ha/škropljenje	Poraba a.s. v kg/ha/sezono
Fungicidi	0 do 5	2,32	1,08	2,51
Insekticidi	0 do 5	1,45	0,04	0,06
Herbicidi	-	-	-	-
Skupna poraba a.s./ha				2,57

3.4 Trajni nasadi

Jabolka se v Sloveniji pridelujejo v intenzivnih nasadih, ki jih razvrščamo v več kategorij, od zelo intenzivnih, z veliko rabo FFS pa do manj intenzivnih z zmerno rabo FFS, poleg tega se pridelava jabolk odvija tudi na travniških in neoskrbovanih nasadih, obišnih nasadih in v okviru intenzivne ekološke pridelave. Po podatkih iz Statističnega letopisa Slovenije je bilo leta 2009 v Sloveniji 2859 ha sadovnjakov z evidentirano intenzivno pridelavo jabolk, površin z manj intenzivno in ekstenzivno pridelavo pa je bilo še nekaj več.

Pri intenzivni pridelavi jabolk porabijo sadjarji predvsem veliko fungicidov. Povprečno število škropljenj je bilo ocenjeno na 16, čeprav se pri najbolj intenzivni pridelavi škropi tudi do 20 krat na leto. Tudi raba insekticidov je v nasadih jablan dokaj intenzivna. Proti jabolčnemu zavijaču v mnogih primerih škropijo tudi petkrat letno, dvakrat se škropi proti ušem. Dodatno imamo škropljenja proti kaparju, cvetožeru in jabolčni grizlici. Naša statistika, ki temelji na rezultatih opravljenih anket kaže, da so pridelovalci v nasadih jablan insekticide uporabili v povprečju 6,2 krat letno in ob tem v povprečju porabili 0,17 kg a.s./ha/škropljenje, kar je zneslo 1,04 kg/ha/letno. Herbicide so glede na rezultate ankete uporabili od 1 do 3 krat letno, povprečno 1,7 krat, povprečna poraba je znašala 0,89 kg a.s./ha/škropljenje oziroma 1,58 kg/ha/letno. Skupna letna poraba a.s. na hektar jabolk je v povprečju znašala 25,5 kg/ha. Grozdje pridelujemo v Sloveniji na okoli 16 000 ha površin, pretežno pridelujemo grozdje za vino. Med varstvenimi ukrepi so najpomembnejši ukrepi za zatiranje bolezni, zato je raba fungicidov v vinogradih največja. Glede na ankete so vinogradniki v letih 2009 in 2010 opravili od 8 do 10 škropljenj s fungicidi, medtem ko je bila raba insekticidov in herbicidov manj intenzivna, v povprečju so škropili manj kot enkrat z insekticidom in s herbicidom. Skupna poraba a.s./ha je znašala okoli 25 kg. Najpogosteje uporabljen fungicid je bil folpet, med anorganskimi pa žveplo.

15

4 SKLEPI

Kmetijska pridelava v Sloveniji je izjemno raznolika zato je razumljivo, da ni mogoče podati neke generalne ocene stanja rabe FFS po kulturah. Na eni strani imamo zelo intenzivno pridelavo, z visokimi pričakovanimi pridelki in tudi z dokaj veliko porabo FFS. Druga skrajnost je precej razširjena pridelava za samooskrbo, ki je lahko povsem ekstenzivna, brez ali z minimalno rabo FFS ali pa tudi nekoliko bolj intenzivna, zato je porabo FFS na teh površinah težko oceniti. Rezultati raziskave predstavljajo povprečno porabo FFS pri intenzivni pridelavi posameznih kmetijskih rastlin, dejanska poraba v konkretnih primerih pa je lahko tudi precej večja. Mnenja smo, da bo za doseganje trajnostne rabe FFS v prihodnje potrebno več pozornosti posvečati upoštevanju načel integrirane pridelave, kar pomeni, izkoristiti vse možne ukrepe za preprečevanje škod, ki bi nastali zaradi delovanja škodljivih organizmov. Predvsem je potrebno več pozornosti nameniti preventivnim ukrepom, kot so kolobar, odporne sorte, uravnotežena prehrana rastlin ipd., ter različnim nekemičnim načinom zatiranja bolezni, škodljivcev in plevelov. Kemično zatiranje ŠO pa uporabiti takrat, ko so druge možnosti izčrpane in na način, ki omogoča doseganje najboljše učinkovitosti uporabljenih snovi (pravilna izbira sredstva ter časa in načina nanosa).

5 LITERATURA

Statistični letopis Republike Slovenije 2010

Statistični letopis Republike Slovenije 2011

Fitosanitarna uprava RS: Seznam registriranih fitofarmaceutskih sredstev na dan 28.10.2011.

<http://spletni2.furs.gov.si/FFS/REGSR/index.htm> (28. okt. 2011)

PRIMERJAVA RABE FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV V SLOVENIJI IN V IZBRANIH EVROPSKIH DRŽAVAH

Matej KNAPIČ¹, Gregor UREK², Meta ZEMLJIČ URBANČIČ³, Vojko ŠKERLAVAJ⁴,
Andrej SIMONČIČ⁵, Jolanda PERSOLJA⁶, Magda RAK CIZEJ⁷, Sebastjan RADIŠEK⁸,
Mario LEŠNIK⁹

¹⁻⁵ Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

⁶⁻⁸ Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec

⁹ Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Pivola

IZVLEČEK

16 Za izdelavo realne ocene rabe fitofarmaceutskih sredstev (FFS) v Sloveniji smo naredili primerjavo z rabo FFS v sosednjih državah članicah EU, poleg tega pa smo v primerjavo vključili tudi rabo FFS v Franciji, Nemčiji in na Nizozemskem. Dostopnost podatkov o porabi FFS po glavnih skupinah je med obravnavanimi državami zelo različna. Ob primerjavi skupne porabe FFS na hektar obdelovalnih zemljišč, smo ugotovili, da je tovrsten kazalnik zavajajoč in ne odraža realnega stanja rabe FFS. Države z večjim deležem trajnih nasadov v strukturi obdelovalnih zemljišč, kot sta na primer Italija in Slovenija, so v takšnem primeru prikazane kot države s prekomerno porabo FFS. Zaradi tega smo uvedli normaliziran indeks porabe, s katerim smo želeli podati obseg rabe FFS po posameznih posevkih in nasadih na skupen imenovalec. Poraba FFS v sadjarstvu in vinogradništvu ter ostalih intenzivnejših pridelavah, je neprimerno večja od porabe FFS v poljedelski pridelavi in je običajno večja tudi za več kot dvajsetkrat. Zaradi tega smo za posamezno kulturo najprej izdelali škropilne programe oziroma določili tisto količino porabe FFS, ki še zagotavlja kolikor toliko stabilno pridelavo. Tako smo določili, da je poraba v povprečnem poljedelskem kolobarju 1 kg aktivnih snovi (a. s.), v pridelavi jabolk 22 kg, v vinogradništvu 20 kg, breskvah 27 kg in oljkah 1,5 kg a. s., medtem ko smo vse ostale pridelave v trajnih nasadih, vključno s pridelavo vrtnin in cvetja v steklenjakih na Nizozemskem, obremenili s povprečno porabo 10 kg aktivnih snovi na hektar. Nato smo površine posamezne pridelave v obravnavanih državah pomnožili s porabo a. s. na hektar ter sešteli vse tako dobljene površine v državah in jih delili s skupno porabo a. s. v državi. Tako dobljeni indeks primerja porabo FFS ne glede na strukturo pridelave in kot takšen realno oceni prekomerno ali zmanjšano rabo FFS. Tovrstna primerjava pokaže, da je na Nizozemskem poraba FFS zelo velika oziroma prekomerna ter da je poraba FFS na ha obdelovalnih zemljišč v Avstriji najmanjša od vseh obravnavanih držav.

Ključne besede: fitofarmaceutska sredstva, poraba fitofarmaceutskih sredstev, primerjava porabe, normaliziran indeks

¹ univ. dipl. inž. agr., Hacquetova 17, SI-1001 Ljubljana

² doc. dr., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁵ doc. dr., prav tam

⁶ mag. univ. dipl. inž. agr., Cesta Žalskega Tabora 2, SI-3310 Žalec

⁷ dr., prav tam

⁸ dr., prav tam

⁹ prof. dr., Pivola 10, Hoče

ABSTRACT

COMPARISON OF THE USE OF PLANT PROTECTION PRODUCTS IN SLOVENIA AND IN SELECTED EUROPEAN COUNTRIES

To create a realistic assessment of the use of plant protection products (PPPs) in Slovenia we compared the use of PPPs in SLO and neighboring EU Member States. In addition, we also include a comparison of the use of PPPs in France, Germany and the Netherlands. Accessibility of information on the use of pesticides by major groups among the countries is very different. When comparing the total consumption of pesticides per hectare of cultivated land, we have found that such an indicator is misleading and does not reflect the reality of the use of pesticides. Countries with a higher proportion of permanent crops in the structure of cultivated land, such as Italy and Slovenia, show excessive use of PPP. For this reason, we introduced normalized index of PPP consumption, with which we wanted to give the extent of PPPs use for individual cultures to a common denominator. Consumption of PPPs in horticulture and viticulture and other intensive cultivation is much higher than PPPs use in arable production and is usually greater for longer than twenty times. For this reason, spray programs to determine the quantity of PPP use which enable more or less stable production and present a sustainable use of PPPs have been developed for each culture. Thus, we determined that in the average arable rotation the PPP use is 1 kg of active ingredient (a. i.) per hectare, in the production of apples 22 kg, 20 kg in wine, 27 kg of a. i. in peaches production and 1.5 kg of a. i. in olives production, while for all other production of permanent crops, including the production of vegetables and flowers under glass in the Netherlands, the average use of 10 kg of active ingredient per hectare was decided. After that quantifications of PPP consumption per culture per hectare were multiplied by the surface area of each culture. Obtained surface area for different production was summed and divided by the total use of a. i. in each country. The resulting index compares the use of PPP regardless of the structure of production and as such represents realistic assessment of excessive or reduced use of pesticides. Such a comparison showed that the use of PPP in the Netherlands is very high or excessive, and that the use of pesticides per hectare of cultivated land in Austria is smallest among the countries involved in comparison.

Key words: plant protection products, plant protection use, comparison of plant protection use, normalized index

1 UVOD

Za pravilno oceno porabe fitofarmacevtskih sredstev (FFS) potrebujemo poleg skupne količine porabljenih FFS ter površin kmetijskih zemljišč tudi nekatere ostale podatke, kot je struktura porabljenih FFS ter predvsem struktura kmetijske pridelave. Prav tako je zelo pomembno, da poznamo vir podatkov ter njihovo zanesljivost. Zbiranje in poročanje podatkov o porabi FFS je bilo do sprejetja Direktive 2009/128/ES neenotno in ne povsem zavezujoče, zato se zanesljivost podatkov o porabi med posameznimi državami članicami ES močno razlikuje (Nadin in Selenius, 2007).

Brez znanja o podatkih, ki nam služijo za izdelavo ocene o porabi FFS, se zelo hitro dogodi, da pride do prehitrih in napačnih ocen, ki so lahko zelo zavajajoče. V analizi porabe FFS v Sloveniji in izbranih evropskih državah, ki smo jo naredili v okviru ciljnega raziskovalnega programa in naj bi služila kot osnova za izdelavo nacionalnega akcijskega načrta za zmanjšanje tveganja zaradi rabe FFS (Urek in sod., 2012), smo podrobneje predstavili najpogostejše vzroke napačnih indeksov porabe FFS.

Oceno porabe FFS največkrat izražamo z indeksi. Kot osnoven in hkrati tudi najbolj razširjen indeks porabe FFS je izražena poraba FFS (kg) na ha kmetijskih zemljišč. Najbolj primerno je, da se poraba FFS porazdeli na ha obdelovalnih zemljišč, saj se tam porabi večina FFS.

Redkeje je v uporabi indeks porabe, ki predstavlja porabo na vseh kmetijskih zemljiščih, še manj smiseln pa je prikaz porabe vseh količin FFS na ha njivskih zemljišč.

Osnovni indeks porabe FFS je zelo splošen in kot bomo pokazali v nadaljevanju, lahko zelo zavajajoč, saj ne loči med kmetijsko pridelavo v trajnih nasadih in pridelavo na njivskih zemljiščih, kjer je poraba FFS praviloma veliko manjša od porabe v trajnih nasadih. V članku bo predstavljen inovativen pristop k izračunu indeksa, ki odraža strukturo kmetijske pridelave, hkrati pa omogoča zaznavo prekomerne porabe FFS.

2 METODE DELA

V primerjavo porabe FFS smo vključili sosednje države članice EU - Avstrijo, Italijo, Madžarsko, poleg njih pa še Francijo, Nemčijo in Nizozemsko. V prvi fazi smo za izbrane države uporabili enotne kategorije kmetijskih zemljišč. Površine in strukturo kmetijske pridelave smo praviloma črpali iz nacionalnih statističnih letopisov, podatke pa smo preverjali ali dopolnili s podatki s svetovnega strežnika statističnih podatkov (Worldstat), evropskega strežnika (Eurostat) ali pa s FAO strežnika statističnih podatkov.

Več težav smo imeli z zagotavljanjem podatkov o porabi oziroma prodaji FFS v posameznih državah. Dostopnost in kakovost podatkov o prodaji FFS se med obravnavanimi državami močno razlikuje. Čeprav se praviloma uporabljajo podatki o veleprodajnih količinah FFS, ki so nekoliko nižje od maloprodajnih, smo za slovenske podatke črpali bazo maloprodaje FFS za leto 2009, ker smo jih na ta način lahko povezali s porabo v prostoru. V našem primeru smo prodajo FFS v letu 2009 povezali s statističnimi regijami. Žal nismo uspeli zagotoviti podatka o prodaji FFS za obravnavane države za enotno leto, zato je časovni niz v razponu od 2008 do 2010. Podatke o prodaji FFS za posamezno državo smo črpali iz različnih virov: Avstrija (Grüner Bericht 2011, 2011), Francija (Tome VI. 2009), Italija (Distribution of PPP..., 2010), Madžarska (Sustainable development indicators in Hungary, 2011), Nemčija (Prodaja sredstev za varstvo rastlin v ZR Nemčiji za 2010, 2011), Nizozemska (Statistični letopis za 2010, 2011).

Ob primerjavi skupne porabe FFS na ha obdelovalnih zemljišč, smo ugotovili, da je tovrsten kazalnik zavajajoč in ne odraža realnega stanja rabe FFS. Države z večjim deležem trajnih nasadov v strukturi obdelovalnih zemljišč, kot sta na primer Italija in Slovenija, so v takšnem primeru prikazane kot države s prekomerno porabo FFS. Zaradi tega smo uvedli normaliziran indeks porabe, s katerim smo želeli podati obseg rabe FFS po posameznih kulturah na skupen imenovalc. Poraba FFS v sadjarstvu in vinogradništvu ter ostalih intenzivnejših pridelavah, je neprimerno večja od porabe FFS v poljedelski pridelavi in je navadno večja tudi za več kot dvajsetkrat. Zaradi tega smo za posamezno kulturo najprej izdelali škropilne programe oziroma določili tisto količino porabe FFS, ki še zagotavlja kolikor toliko stabilno pridelavo. Tako smo na osnovi priporočenih škropilnih programov določili, da je poraba v povprečnem poljedelskem kolobarju 1 kg aktivnih snovi (a.s.), v pridelavi jabolk 22 kg, v vinogradništvu 20 kg, breskvah 27 kg in oljkah 1,5 kg a.s., medtem ko smo vse ostale pridelave v trajnih nasadih, vključno s pridelavo vrtnin in cvetja v steklenjakih na Nizozemskem, obremenili s povprečno porabo 10 kg aktivnih snovi na hektar. Normaliziran indeks smo izračunali po naslednji formuli:

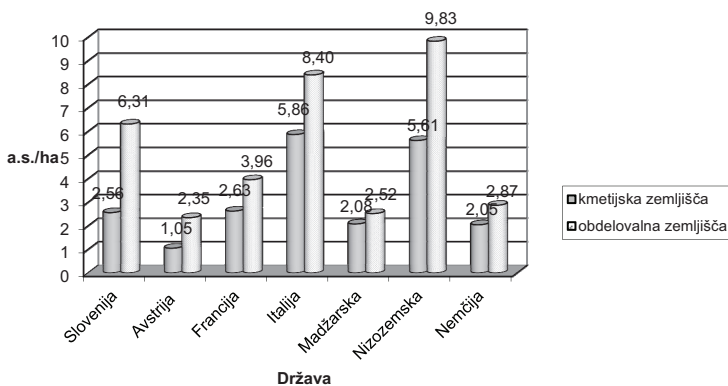
$$Ni = \frac{\sum FFS(kg)}{\sum_{a} \text{kategorija rabe (ha)} * \text{smotrna raba FFS(kg/ha)}}$$

kjer je a do n - kultura oz. raba zemljišč ter odgovarjajoča količina FFS pri trajnostno naravnani rabi.

Tako dobljeni indeks primerja porabo FFS ne glede na strukturo pridelave in kot takšen realno oceni prekomerno ali zmanjšano rabo FFS.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

Običajni indeks porabe FFS izračunamo na ha obdelovalnih površin (njive+trajni nasadi), neredko pa tudi drugače, zato je v sliki 1 prikazana razlika med indeksi posameznih držav, če so izračunani na ha obdelovalnih zemljišč ali pa na ha vseh kmetijskih zemljišč.

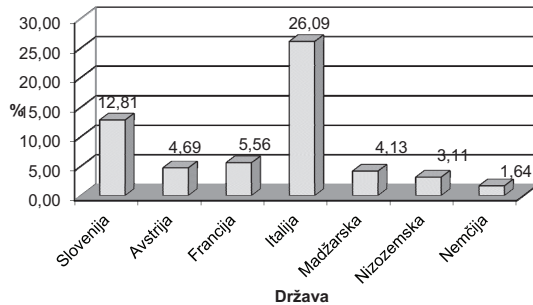


19

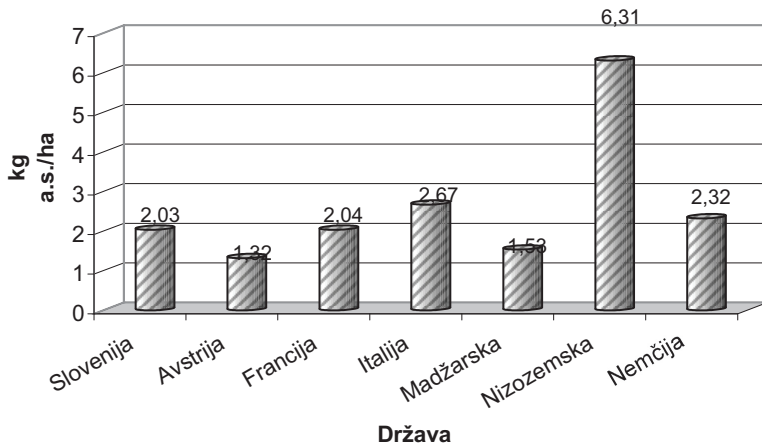
Slika 1: Primerjava indeksov porabe FFS izračunanih z različnimi kategorijami kmetijskih zemljišč

Kot je razvidno iz slike 1 so zaradi večjih površin kmetijskih zemljišč, tovrstni indeksi držav občutno manjši od indeksa, izračunanega na podlagi površin obdelovalnih zemljišč. Eno večjih odstopanj je moč opaziti prav pri Sloveniji, saj je delež travniških površin v strukturi vseh kmetijskih površin velik. Ker se občasna raba FFS pojavlja le na omejenih travniških površinah le-teh ni smiselno vključevati v izračun indeksa porabe FFS. Če podrobneje analiziramo indeks porabe FFS, ki smo ga izračunali z obdelovalnimi površinami, lahko ugotovimo, da primerjava med obravnavanimi državami kaže nekoliko presenetljivo sliko. Predvsem uvrstitev Italije in Slovenije na 2. oziroma 3. mesto po porabi FFS, močno odstopa od pričakovanj na podlagi poznavanja tehnologij pridelave. Po drugi strani je uvrstitev Nemčije v drugo polovico obravnavanih držav po indeksu porabe FFS presenetljiva, saj je na podlagi naših osebnih izkušenj uporaba FFS v tej državi vsaj na takšni ravni kot v Sloveniji. Pri iskanju vzrokov za odstopanje pričakovanih rezultatov, smo ugotovili, da je struktura kmetijske pridelave med državami različna. Iz slike 2 lahko razberemo, da delež trajnih nasadov v strukturi obdelovalnih zemljišč močno odstopa v Italiji in Sloveniji, medtem ko je v Nemčiji še posebno majhen. Če imamo v mislih, da je poraba, četudi trajnostno naravnana, v trajnih nasadih tudi več kot 20 krat večja od tiste na njivskih površinah, lahko hitro sklenemo, da je struktura pridelave tista, ki v večji meri odreja velikost indeksa.

Zato smo skladno z metodologijo opisano v metodah dela, normalizirali posamezno kmetijsko pridelavo znotraj površin trajnih nasadov tako, da smo jo pomnožili s faktorjem trajnostno naravnane porabe FFS. Na ta način smo različne vrste kmetijske pridelave postavili na skupni imenovalec.



Slika 2: Delež trajnih nasadov v obdelovalnih površinah



Slika 3. Normalizirani indeks porabe FFS na ha obdelovalnih površin.

V sliki 3 so prikazani normalizirani indeksi, ki so skladnejši s pričakovanimi rezultati in realnimi razmerami. Še vedno sta na začetju porabe Avstrija in Madžarska. Vzrok za njuno ugodno mesto je seveda različen. Nizka obremenitev obdelovalnih zemljišč s FFS v Avstriji, je posledica aktivne politike, medtem ko je nizka obremenitev na Madžarskem, v večji meri posledica zloma kmetijskega gospodarstva ob menjavi političnega sistema (Burger, 2009). Tema državama sledita Slovenija in Francija. Še vedno po porabi FFS močno odstopa Nizozemska, kar kaže na zelo intenzivno rabo FFS, ki ni trajnostno naravnana. Italija je še vedno druga po velikosti porabe FFS na ha obdelovalnih zemljišč, vendar je njena poraba s povprečjem obravnavanih držav le malenkostno večja. To sicer kaže na še vedno intenzivnejšo rabo FFS v Italiji, ki pa vsekakor ne odstopa tako močno od primerljivih držav

kot to pokaže običajen indeks porabe FFS. Normaliziran indeks porabe FFS v Sloveniji potrjuje, da je poraba FFS v Sloveniji blizu povprečja obravnavanih držav. Zaradi večjega deleža trajnih nasadov v strukturi obdelovalnih zemljišč, uporaba običajnega indeksa porabe FFS poda napačno sliko o rabi FFS v Sloveniji

Čeprav predstavljen normaliziran indeks še ni do potankosti optimiziran, saj so bile uporabljene trajnostno naravnane količine FFS za posamezno pridelavo določene brez širokega preverjanja in so lahko predmet nadaljnjih razprav, se je pokazala njegova uporabnost. S tako postavljenim skupnim imenovalcem lahko primerjamo splošno raven uporabe FFS in kot takšno tudi uspešnost politik trajnostno naravnane rabe FFS. Kljub vsemu pa ima količinski indeks porabe FFS le informativni značaj in je potrebno uspešnost ukrepov za zmanjšano rabo FFS spremljati z drugimi indeksi kot sta obremenitveni indeks ali indeks pogostnosti rabe (Urek in sod., 2012).

4 LITERATURA

- Nadin P. Selenius J. 2007. Recent developments in EU statistics on pesticides, fertilizers and water. Fourth International Conference on Agriculture Statistics (ICAS-4) Advancing Statistical Integration and Analysis (ASIA) Beijing, 22-24 October 2007
- Urek, G., Knapič, M., Urbančič Zemljč, M., Škerlavaj, V., Simončič, A., Persolja, J., Rak Cizej, M., Radišek, S., Lešnik, M. (2012) Raba fitofarmaceutskih sredstev in preučitev možnosti za njihovo racionalnejšo uporabo v Sloveniji. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije, 163 str.
- Burger A. 2009. The Situation of Hungarian Agriculture.: (<http://purl.umn.edu/90651>) (5.6.2013)
- Grüner Bericht 2011. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo, okolje in upravljanje z vodami Republike Avstrije.
http://www.lebensministerium.at/publikationen/land/gruener_bericht/gruener_bericht_2011.html(5.6.2013)
- Sustainable development indicators in Hungary 2011. Osrednji statični urad Madžarske.
<http://portal.ksh.hu/pls/ksh/docs/hun/xftp/idoszaki/fenntartfejl/fenntartfejl09.pdf> (5.6.2013)
- Distribution of plant protection products for agricultural use 2009. 2010. Državni inštitut za statistiko,
http://en.istat.it/salastampa/comunicati/non_calendario/20101110_00/Fitosanitari_EN.pdf (5.6.2013)
- Tome VI. 2009, INRA
<http://www.paneurope.info/Campaigns/documents/Agriculture/INRA,%20use%20of%20pesticides%20in%20France.pdf> (5.6.2013)
- Prodaja sredstev za varstvo rastlin v ZR Nemčiji za 2010. 2011. Zvezni urad za varstvo potrošnikov in hrane
http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/04_Pflanzenschutzmittel/meld_par_19_2010.pdf?__blob=publicationFile&v=2
- Statistični letopis za leto 2010, 2011. Statistični urad Nizozemske.
<http://www.cbs.nl/NR/rdonlyres/CBFF2453-C370-4E7A-9271-0020DC62DC4E/0/2010a3pub.pdf>;

POMEN KAZALNIKOV ZA SPREMLJANJE RABE FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV

Gregor UREK¹, Matej KNAPIČ², Meta ZEMLJIČ URBANČIČ³, Vojko ŠKERLAVAJ⁴,
Andrej SIMONČIČ⁵, Jolanda PERSOLJA⁶, Magda RAK CIZEJ⁷, Sebastjan RADIŠEK⁸,
Mario LEŠNIK⁹

¹⁻⁵Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

⁶⁻⁸Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec

⁹Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Pivola

IZVLEČEK

V Sloveniji je potrebno v skladu z direktivo 2009/128/ES pripraviti načrt ukrepov za zmanjševanje tveganj in vplivov uporabe fitofarmaceutskih sredstev (FFS) na zdravje ljudi in okolje. Potrebno je čim bolj natančno opredeliti cilje začrtanih ukrepov in pripraviti transparenten sistem spremljanja in poročanja o uspehih doseganja teh ciljev. V ta namen je potrebno opredeliti ustrezne kazalnike za spremljanje rabe FFS. V omenjenem prispevku obravnavamo kazalnike, ki smo jih pripravili v okviru priprave nacionalnega akcijskega plana (NAP) za zmanjšanje tveganj zaradi rabe FFS. Omenjeni kazalniki se nanašajo na obseg rabe FFS, pogostnost rabe FFS in indeks obremenitve, ki temelji na izračunu razmerja med prodano količino neke aktivne snovi v določenem časovnem obdobju in zmnožkom med skupno obdelovalno površino in odmerkom ali koncentracijo, ki povzroči smrt pri 50 odstotkih izpostavljenih organizmov (LD₅₀ oz. LC₅₀). Za ta kazalnik smo opravili tudi simulacijske izračune za integrirano in ekološko pridelavo jabolk, pšenice in krompirja. Ugotovili smo, da je za popolnejšo oceno oziroma primerjavo med različnimi strategijami pridelave/varstva rastlin potrebno v analizo tveganja vključiti celo vrsto drugih parametrov oz. kazalnikov, in da se je zmanjševanja tveganja zaradi rabe FFS potrebno lotiti preudarno, celovito in predvsem na oprijemljivih, strokovnih ocenah.

Ključne besede: fitofarmaceutska sredstva, kazalniki tveganja, obseg rabe, pogostost rabe, obremenitveni indeks

ABSTRACT

THE IMPORTANCE OF INDICATORS TO MONITOR THE USE OF PESTICIDES

In accordance with Directive 2009/128/EC, it is necessary to prepare a contingency plan in Slovenia to reduce the risks and impacts of pesticide use (PPP) on human health and the environment. It is also necessary to define the objectives of planned activities to reduce the risk of pesticide use more precisely and to prepare a transparent system of monitoring and reporting on the successful attainment of planned goals. Therefore, an approach of

¹ doc. dr., Hacquetova 17, SI-1001 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁵ doc. dr., prav tam

⁶ mag. univ. dipl. inž. agr., Cesta Žalskega Tabora 2, SI-3310 Žalec

⁷ dr., prav tam

⁸ dr., prav tam

⁹ prof. dr., Pivola 10, Hoče

establishing of indexes and tools for the monitoring of the use and risks of pesticides has to be made. In this paper, the indicators that have been prepared for the purpose of the National Action Plan (NAP) to reduce the risks from the use of pesticides are discussed. These indicators related to the extent of the use of pesticides, treatment frequency of pesticide use and finally to the load index that is based on the calculation of the ratio between the sold quantity of an active substance in a certain period of time (one year) and product between the total arable area and LD₅₀ and/or LC₅₀ (dose or concentration causing death of 50 percent of exposed organisms). To illustrate the usability of load index, a simulation for different approaches to plant protection in the organic and integrated (based on IPM) apple productions are presented. For a complete assessment and comparison between different strategies of plant production/plant pest management some other parameters or indicators should be followed. The risk reduction due to the use of pesticides should be undertaken prudently, comprehensive and above all on the concrete, expert estimates.

Key words: plant protection products, risk indexes, extent of use, treatment frequency, load index

1 UVOD

V prizadevanjih za zmanjšanje negativnih vplivov rabe FFS na ljudi in okolje je bila v EU sprejeta pravna podlaga nacionalnega akcijskega plana, ki je določena v Direktivi 2009/128/ES Evropskega Parlamenta in Sveta EU o določitvi okvira za ukrepe Skupnosti za doseganje trajnostne rabe FFS. Omenjena direktiva se nanaša na določitev okvira ukrepov za doseganje trajnostne rabe FFS, ki ima za cilj zmanjšanje rabe FFS in varstvo potrošnikov in kmetijskih delavcev pred škodljivimi vplivi FFS preko zaužitja s hrano ali pitno vodo ter varstvo okolja pred neposrednimi in posrednimi škodljivimi učinki FFS na kmetijska zemljišča, vodotoke in naravne habitate (tla, zrak, površinske vode in morsko okolje).

V okviru omenjenih prizadevanj je bilo potrebno med drugim izdelati kazalnike za spremljanje ukrepov za zmanjšanje tveganja zaradi rabe FFS. V omenjenem prispevku obravnavamo kazalnike, ki smo jih pripravili oziroma predlagali za sledenje različnih tveganj zaradi rabe FFS.

2 REZULTATI IN DISKUSIJA

Med najosnovnejše kazalnike za spremljanje ukrepov za zmanjšanje tveganja zaradi rabe FFS uvrščamo kazalnik, ki se nanaša na *obseg rabe FFS*, s katerim lahko spremljamo porabo ali morebiten odstotek zmanjšanja rabe FFS izražen v tonah aktivnih snovi.

Ta kazalnik pogosto uporabljajo številne evropske države za prikaz zmanjšane rabe FFS oziroma za oblikovanje nadaljnjih aktivnosti v smeri zmanjševanja tveganja zaradi FFS. Na žalost ima ta kazalnik za uporabo precej pomanjkljivosti, saj ne upošteva morebitnih sprememb velikosti obdelovalnih površin, sprememb tehnologije kmetijske pridelave in letnega nihanja potreb po zatiranju škodljivih organizmov zaradi nihanja populacij škodljivih organizmov in spremenjenih formulacij FFS.

Zmanjšanje obsega rabe FFS ne moremo enostavno enačiti z zmanjšanjem tveganja zaradi FFS, kajti kemikalije, ki se uporabljajo v nižjih koncentracijah, so biotično precej aktivnejše in kot take lahko predstavljajo enako ali celo večje tveganje za okolje, biotsko raznovrstnost in zdravje ljudi od kemikalij, ki jih uporabljamo v večjih koncentracijah.

Prav tako se s povečanjem deleža ekoloških pridelovalcev v nekem okolju lahko poveča tudi uporaba aktivnih snovi, ki se uporabljajo v večjih odmerkih (npr. baker in žveplo). Povečanje rabe tovrstnih snovi pa pravzaprav ne pomeni tudi povečanja tveganja zaradi rabe FFS.

Podatki o uporabljenih FFS tudi niso povsem primerljivi z drugimi državami EU, saj se zakonodaja s področja FFS v posameznih državah razlikuje. Tako nekatere države anorganskih fungicidov na podlagi bakrovih spojin in žvepla ne uvrščajo med FFS. Ravno tako znotraj EU niso enotno razmejeni biocidi in FFS. To dodatno vpliva na končni izračun obremenitve kmetijskih površin s FFS, ki predstavlja podlago za okoljsko in družbeno pomembne sklepe. Nestrokovna in zato neprimerna je tudi primerjava posameznih držav glede porabe FFS na ha, če jih ne spremlja strokovna razlaga.

Pri obravnavi tega kazalnika je potrebno poudariti, da so razpoložljivi statistični podatki o porabi FFS na ha v Sloveniji precej dvoumni, predvsem zaradi njihove nejasne interpretacije. Za izračun porabe namreč upoštevajo podatke o prodanih FFS in podatke o obdelovalnih zemljiščih. Za Slovenijo je značilna velika razdrobljenost parcel, razpršeno lastništvo nad obdelovalnimi zemljišči in razširjena pridelava za samooskrbo. Podatki o obdelovalnih zemljiščih niso istovetni s podatki o obegu zemljišč, kjer se dejansko izvaja nanos FFS in so zato neustrezni za izračun obremenitve površin s FFS. Uradni podatek Statističnega urada RS (SURSTAT) namreč ne zajema površine vseh zemljišč, na katerih se uporabljajo FFS. Obdelovalna zemljišča, ki so v lasti nekmetov ter nekmetijska zemljišča (železnice, brežine cest, pasovi ob regionalnih cestah, športne površine, zelenice, okrasne javne površine, ...), kjer se prav tako uporabljajo FFS, v veliki večini niso zajeta v statistično obravnavo. Zato so prikazani podatki o hektarski porabi FFS večji od realnih.

Kljub vsemu pa je kazalnik 1 (obseg rabe FFS) lahko zelo uporaben pokazatelj tveganja, predvsem kadar ga uporabljamo v povezavi z drugimi kazalniki in opredeljenimi cilji. Kadar uporabljamo kazalnik 1 v primerjavi z ostalimi državami, je potrebno poznati naravo uporabljenih podatkov, saj se način zbiranja podatkov med državami močno razlikuje.

Poleg obsega rabe FFS lahko spremljamo tudi pogostnost rabe FFS (Treatment frequency index), ki nam pove, kolikokrat letno se lahko obdelajo/poškrbijo določeno kmetijsko površino s prodano količino nekega FFS s predpostavko, da se le-ta uporablja v predpisanih odmerkih.

$$\text{PR-indeks} = \frac{\sum (\text{PK}_{a,s} / \text{SO}_{\text{rastlinska vrsta}})}{\text{VPP}_{\text{rastlinska vrsta}}}$$

vse aktivne snovi

PK_{a,s}: prodane količine določene aktivne snovi v enem letu (sold amount)

SO_{rastlinska vrsta}: standardni odmerek za vsako aktivno snov v vsaki posevku/nasadu (standard dose)

VPP_{rastlinska vrsta}: velikost pridelovalne površine določenega posevka/nasada (area under cultivation by a particular crop/crop type)

Pogostnost rabe FFS je sorazmerno dober pokazatelj obremenjevanja okolja, saj dopušča, da lahko vsa fitofarmacevtska sredstva (FFS), tudi nizko odmerjene, visoko specifične aktivne snovi teh sredstev vplivajo na ne-tarčne organizme, bodisi v kombinaciji ali posamično, kratko- ali dolgoročno, letalno ali subletalno oziroma posredno ali neposredno (vpliv na raznovrstnost organizmov). S PR-indeksom dobimo vpogled v intenzivnost škropljenja, odvisnost pridelave določene gojene rastline od uporabe FFS in tudi informacijo o učinkovitosti sprejetih ukrepov za zmanjšanje rabe FFS. Ta kazalnik je enostaven in transparenten in se ga lahko uporablja za vse pomembnejše kmetijske rastline. Z njim lahko opredelimo jasne cilje glede zmanjšanja rabe FFS tako na makro- (nacionalni) kot tudi na mikro ravni (zastavljeni cilji na posamezni kmetiji).

Poleg obsega in pogostnosti rabe FFS lahko spremljamo tudi nekatere kazalnike tveganja, ki pa jih je zaradi njihove kompleksnosti precej težko ovrednotiti.

Med kazalnike tveganja zaradi uporabe FFS, ki jih je priporočljivo spremljati sodijo:

- vsebnost ostankov FFS v kmetijskih pridelkih;
- vsebnost ostankov v živilih (cilji: pod zakonsko dovoljenimi vsebnostmi);

- vsebnost ostankov v tleh kot jih kontrolira kmetijska inšpekcija;
- onesnaženost podtalnice in površinskih voda;
- tveganje za ljudi (npr. akutna toksičnost, draženje kože in oči, kronična toksičnost, imunotoksičnost, nevrotoksičnost, kancerogenost, mutagenost, učinki na reprodukcijo);
- tveganje za drugo okolje/organizme (npr.: deževniki, čebele, koristne žuželke, vodne rastline in živali, ptice, neciljni kopenski organizmi, talni mikroorganizmi, perzistentnost v tleh, izperljivost, biokonzracija).

Tveganje za drugo okolje/organizme lahko spremljamo s količnikom obremenitve oziroma obremenitvenim indeksom (OI = obremenitveni indeks = Load index), ki temelji na izračunu razmerja med prodano količino neke aktivne snovi v določenem časovnem obdobju (enem letu) in zmnožkom med skupno obdelovalno površino in LD₅₀ oz. LC₅₀ (odmerek oz. koncentracija, ki povzroči smrt pri 50 odstotkih izpostavljenih organizmov). Omenjen indeks se izračuna za vse prodane aktivne snovi in se ga izrazi kot:

$$OI = \Sigma (PK_{a.s.} / (TOX \times SOP_{leto}))$$

vse aktivne snovi

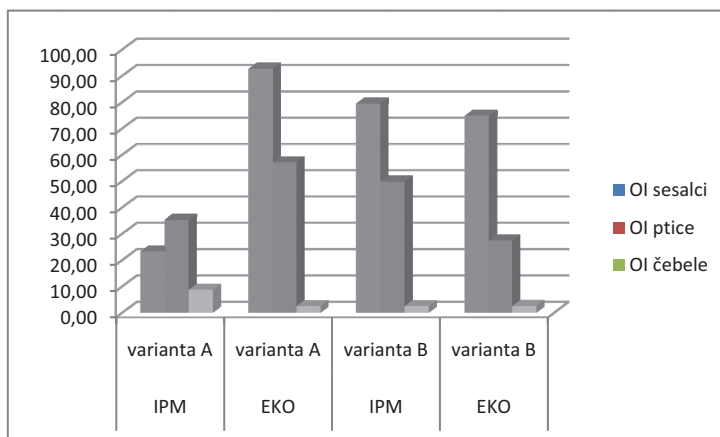
PK_{a.s.}: prodane količine določene aktivne snovi v enem letu (»sold amount«)
TOX: LC₅₀ ali LD₅₀
SOP_{leto}: skupne obdelovalne površine (»area of cultivated land«)

25

Glede na to, da so FFS-jem izpostavljeni številni ne-tarčni organizmi, kot so kopenski vretenčarji, ptice, deževniki in drugi ne-tarčni talni organizmi, čebele, vodni organizmi, mikroorganizmi itn., katere želimo zavarovati, izračunamo OI za vsako skupino omenjenih organizmov oziroma za vsako aktivno snov posebej. S tem kazalnikom ne merimo dejanskega vpliva določenih aktivnih snovi na populacije posameznih organizmov oziroma na ekosistem ampak izračunamo relativno tveganje, ki nam omogoča medletne primerjave oziroma trende. Na temelju izračunanih OI smo opravili simulacijo obremenitve okolja oziroma omenjenih skupin organizmov v dveh nasadih jabolk, ki sta bila podvržena različnim strategijam pridelave, integrirani oz. ekološki.

Izkazalo se je, da je skupni obremenitveni indeks pri ekološki pridelavi jabolk za sesalce in ptice lahko v nekaterih primerih večji od OI integrirane pridelave, in sicer na račun bistveno večjih količin uporabljenih anorganskih FFS (bakra, žvepla in kalcijevega polisulfida). V primeru obremenitve čebel je bil sicer OI pri ekološki pridelavi ugodnejši od OI pri integrirani pridelavi, predvsem zaradi uporabe abamektina (Vertimec) proti pršicam (varianta A); pri varianti B pa razlik med OI ekološke oziroma integrirane pridelave nismo zaznali. Izkazalo se je, da bi v primeru zamenjave glede OI za čebele neugodnega abamekatina, lahko izboljšali OI integrirane pridelave do te mere, da bi bil lahko primerljiv ali celo ugodnejši od OI ekološke pridelave.

Podobno kot pri jabolkah smo simulacijo obremenitve sesalcev, ptic in čebel naredili tudi pri krompirju in pšenici, podvrženim različnim strategijam pridelave (integrirani oz. ekološki) in izračunali obremenitvene indekse (OI) za posamezne količine aktivnih snovi na posamezni njivi oziroma skupni indeks obremenitve posameznih strategij pridelave. Kot je bilo pričakovati, je OI za sesalce in čebele pri krompirju v ekološki pridelavi nekoliko ugodnejši od OI integrirano pridelanega krompirja, medtem ko je bil OI za ptice v obeh primerih skoraj enak.



Slika 1: Primerjava skupnega obremenitvenega indeksa med različnimi variantami ekološke in integrirane pridelave jabolk.

Iz prikazanih simulacij lahko sklenemo, da je OI vezan tako na rabo organskih (sintetičnih) kot tudi anorganskih (baker, žveplo) FFS. Intenzivnost rabe posameznih skupin FFS pa je ne glede, ali gre za integrirano ali ekološko pridelavo tista, ki določa stopnjo tveganja OI za naše okolje oz. neciljne organizme.

26

Poudariti je potrebno, da bi bilo za popolnejšo oceno oziroma primerjavo potrebno v analizo tveganja vključiti še celo vrsto drugih parametrov oz. kazalnikov, vendar kljub temu lahko sklenemo, da se je zmanjševanja tveganja zaradi rabe FFS potrebno lotiti predvsem preudarno, celovito in logično. Kazalniki predstavljajo le orodje za grobo oceno tveganja in so primerni za različne primerjave rabe FFS. Kljub vsemu pa njihova uporaba terja ustrezno previdnost, saj nas lahko površna raba kazalnikov hitro zavede, zato mora njihovo uparabo obvezno spremljati ustrezno strokovno ovrednotenje rezultatov. Zmanjševanje rabe FFS mora temeljiti predvsem na oprijemljivih, znanstveno strokovnih ocenah.

3 VIRI

Urek, G., Knapič, M., Urbančič Zemljič, M., Škerlavaj, V., Simončič, A., Persolja, J., Rak Cizej, M., Radišek, S., Lešnik, M. (2012) Raba fitofarmaceutskih sredstev in preučitev možnosti za njihovo racionalnejšo uporabo v Sloveniji. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije: 163 str.

MOŽNOSTI IN UKREPI ZA ZMANJŠANJE TVEGANJA ZARADI RABE FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV

Gregor UREK¹, Matej KNAPIČ², Meta ZEMLJIČ URBANČIČ³, Vojko ŠKERLAVAJ⁴,
Andrej SIMONČIČ⁵, Jolanda PERSOLJA⁶, Magda RAK CIZEJ⁷, Sebastjan RADIŠEK⁸,
Mario LEŠNIK⁹

¹⁻⁵Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

⁶⁻⁸Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec

⁹Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Pivola

IZVLEČEK

V prispevku predstavljamo nekatere možnosti in ukrepe za zmanjšanje tveganja zaradi rabe fitofarmaceutskih sredstev (FFS). Predlagamo stalno spremljanje in analiziranje kazalnikov, ki se nanašajo na zmanjševanje tveganja zaradi rabe FFS. Mnenja smo, da je za doseganje cilja zmanjšanja rabe FFS izredno pomembno spodbujanje in izvajanje strokovno raziskovalnega dela, vezanega na obvladovanje škodljivih organizmov. V ta namen priporočamo vzpostavitev poskusnih demonstracijskih centrov, v okviru katerih bi potekale različne raziskave in poskusi, tudi demonstracijski, ki bi pripomogli k razvoju in optimizaciji strategij za varstvo rastlin. Na teh centrih bi se lahko pridelovalci prek ogledov, organiziranih predavanj in prikazov, neposredno seznanjali z novostmi, vezanimi na zdravstveno varstvo rastlin. Glede izbire FFS na slovenskem trgu bi bilo potrebno pospešiti postopke uvajanja alternativnih pripravkov, ki niso uvrščeni v kategorijo klasičnih FFS in spodbuditi zastopnike oziroma proizvajalce teh sredstev, da pristopijo k postopkom registracije in spodbuditi ponudbo in trženje ekoloških pripravkov, ki se na temelju biotičnih preskusov izkažejo kot ustrezno učinkoviti (davčne olajšave, subvencioniranje itn.). K zmanjšanju rabe FFS bo v prihodnosti zagotovo v veliki meri doprinesel tehnološki razvoj in optimizacija tehnoloških postopkov pridelave (kolobar, sortni izbor, izbira ustreznih leg naših nasadov, vzgojne oblike, prehrana rastlin, obdelava tal, mehansko zatiranje škodljivih organizmov, tehnološko posodabljanje naprav za nanos FFS, alternativne oblike varstva rastlin, biotično varstvo rastlin, antirezistentna strategija itn.), ki bodo temeljili na domačem in tujem znanju. Poleg navedenega bo k zmanjšanju rabe FFS pripomoglo zlahtnjenje in sortni izbor na škodljive organizme odpornih oz. manj občutljivih rastlin, trženje pridelkov kot tudi spodbude za modernizacijo ali izgradnjo energetske učinkovitih infrastrukturnih objektov, potrebnih za čim bolj učinkovito pridelavo kmetijskih rastlin. Izpostaviti je potrebno nemoteno delovanje javne opazovalno napovedovalne službe. Intenzivirati je treba ukrepe za zmanjšanje zanašanja FFS, predvsem v smislu posodabljanja škropilne tehnike in stalnega izobraževanja uporabnikov FFS.

Ključne besede: fitofarmaceutska sredstva, zmanjšanje tveganja

¹ doc. dr., Hacquetova 17, SI-1001 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁵ doc. dr., prav tam

⁶ mag. univ. dipl. inž. agr., Cesta Žalskega Tabora 2, SI-3310 Žalec

⁷ dr., prav tam

⁸ dr., prav tam

⁹ prof. dr., Pivola 10, SI-2311Hoče

ABSTRACT

POSSIBILITIES AND MEASURES TO REDUCE THE RISK DUE TO THE USE OF PESTICIDES

In this paper we present some possibilities and measures to reduce the risk due to the use of pesticides. Continuous monitoring and analysis of indicators relating to the reduction of risk from the use of pesticides are suggested. To our opinion, promotion and implementation of applied and developmental research linked to pest control is extremely important to reduce the risk of pesticide use. Establishment of experimental demonstration centres, in frame of which research and various experiments would be conducted, would contribute through the transfer of research results into practice to development and optimisation of plant protection strategies. In these centres the producers could get direct approach to novelties related to health protection of plants by means of visits, organised lectures and demonstrations. Administration obstacles should be eliminated in order to allow a quicker and more rational registration of pesticides which will allow the producers to reach a more reliable and environmentally friendlier plant protection. Technological development based on the local and foreign knowledge is a basis, needed for the introduction of appropriate technologies of health protection of plants (e.g. crop rotation, selection of appropriate growing sites, improve growers education, plant nutrition, soil treatment, mechanical pest control, technological modernization of machinery for application of pesticides and, biological plant protection agents, anti-resistant strategy, etc..). According to our estimations breeding and selection as well as introduction of resistant varieties into practice is also necessary. Marketing of crops and incentives for modernization or construction of energy-efficient infrastructure needed for the most efficient production of agricultural crops are also important and help us indirectly in reducing of risk of pesticide use. Public forecasting and warning service for pests and diseases must be well organized (high professional level and independence should be maintained), and its activities must run smoothly. A continuous promotion of new environmentally friendlier technological approaches to plant protection and permanent and efficient providing of information to producers with the latest knowledge in agriculture is recommended.

Key words: plant protection products, risk reduction

1 UVOD

Temeljna naloga slovenskega kmetijstva je zagotoviti ustrezne količine neoporečne hrane oziroma izboljšati samopreskrbo Slovenije s kmetijskimi pridelki, v kar nas silijo podnebne spremembe z vse bolj pogostimi naravnimi ujmami, zaradi katerih je pridelava hrane vedno bolj nepredvidljiva ter številna krizna dogajanja, povezana s svetovnim gospodarstvom. Zagotoviti zadostne količine varne hrane ob upoštevanju načela trajnosti, ohranjanja naravnega okolja, prostora in biotske raznovrstnosti pa ni enostavna naloga, saj kmetijsko pridelavo neprestano ogrožajo številne bolezni rastlin, škodljivci in rastlinske invazivne vrste, ki zmanjšujejo kakovost in količino pridelkov in neposredno vplivajo na kakovost hrane in gospodarnost pridelave kmetijskih rastlin. Za uresničevanje zastavljenega cilja, se je potrebno posvetiti tudi skrbi za okolje in zmanjševanju tveganj in vplivov uporabe fitofarmaceutskih sredstev (FFS), ki so pomemben element zdravstvenega varstva rastlin, na zdravje ljudi in okolje.

V Sloveniji je bil v skladu z Direktivo 2009/128/ES pripravljen načrt, ki se nanaša na možnosti in oblikovanje pogojev za zmanjšanje porabe in vsebnosti ostankov FFS v pridelkih, pri čemer se je potrebno osredotočiti v praktična načela zagotavljanja prehranske varnosti ljudi. Na temelju trenutnega stanja kmetijske pridelave pri nas smo v študiji, ki smo jo

pripravili v okviru ciljnega raziskovalnega projekta, predstavili nekatere možnosti in ukrepe za zmanjšanje tveganja zaradi rabe fitofarmaceutskih sredstev (FFS).

2 REZULTATI IN DISKUSIJA

Kot možnosti in ukrepe za zmanjšanje tveganja zaradi rabe FFS za najpomembnejše kmetijske rastline smo opredelili naslednje sklope:

- vzpostavitev in organizacijo spremljanja, preučevanja in vpeljave optimalnih tehnologij kmetijske pridelave, ki vodijo v zmanjšano porabo FFS,
- raziskave in strokovno delo,
- aktivnosti povezane z opazovalno napovedovalno (prognostično) službo,
- uvajanje izboljšanih tehnik za nanos FFS,
- optimizacija tehnoloških ukrepov,
- tesnejše sodelovanje specialistov za varstvo rastlin s svetovalno službo,
- nadgradnja izobraževanja uporabnikov FFS v smeri manjše rabe FFS in varstva pri delu,
- sistematični nadzor nad ostanki FFS,
- odstranjevanje ostankov embalaže in FFS,
- žlahtnjenje in sortni izbor,
- trženje.

2.1 Vzpostavitev in organizacija spremljanja, preučevanja in vpeljave optimalnih tehnologij kmetijske pridelave, ki vodijo v zmanjšano porabo FFS

29

Poznavanje biologije, ekologije, raznovrstnosti škodljivih organizmov je predpogoj za uspešno varstvo pred njimi. Spoznanja na tem področju so izjemno pomembna, saj je narava škodljivih organizmov takšna, da je potrebno njihovega razvoju neprestano slediti. Preučevanja škodljivih organizmov v določenem ožjem (slovenskem) okolju in vključevanje tovrstnih spoznanj v širši evropski oziroma svetovni prostor pripomorejo k izgradnji temeljnih spoznanj o teh organizmih, na temelju katerih se lahko učinkovito usmerimo v razvoj ustreznih tehnologij pridelave gojenih rastlin in njihovega varstva pred številnimi škodljivci in boleznimi.

V ta namen bi bilo v Sloveniji smotno vzpostaviti ustrezne raziskovalno poskusne demonstracijske centre (poljedelstvo in vrtnarstvo, sadjarstvo, vinogradništvo), ki bodo predstavljali temelj za trajno zagotavljanje raziskovalnih, materialnih in kadrovskih kapacitet na področju zdravstvenega varstva rastlin. V okviru teh centrov bi se preučevala biologija bolezni, bionomija škodljivcev, načini njihovega obvladovanja, interakcije med organizmi, vplivi okolja na razvoj, širjenje in epidemiologijo škodljivih organizmov itn. V omenjenih raziskavah pridobljene informacije nam bi omogočile razvoj in optimizacijo strategij za učinkovito in okoljsko čim bolj sprejemljivo zatiranje škodljivih organizmov na območju Slovenije.

Na teh centrih bi se lahko pridelovalci preko ogledov, organiziranih predavanj in prikazov neposredno seznanjali z novostmi, vezanimi na zdravstveno varstvo rastlin.

2.2 Raziskave in strokovno delo

Strokovno raziskovalno delo je temelj napredka in mora temeljiti na tujem znanju, ki ga je potrebno neprestano nadgrajevati. V ta namen je potrebno zagotoviti zadostne raziskovalno strokovne kapacitete in poskrbeti za krepitev tovrstne dejavnosti, predvsem v smislu usmerjenih aplikativnih in ciljnih raziskav, ki bodo okrepile strokovno znanje na področju

poznavanja in obnašanja škodljivih organizmov v naših okoljskih razmerah, integriranega varstva rastlin kot tudi možnosti za izvajanje alternativnih načinov varstva rastlin pred škodljivimi organizmi.

2.3 Aktivnosti povezane s prognostično službo

Aktivnosti, ki se nanašajo na prognostično službo morajo biti usmerjene v vzdrževanje (dovolj gosta mreža opazovalnih/merilnih točk) in krepitev neodvisne javne službe, dolgoročno vzdrževanje, nadgrajevanje in financiranje podatkovnega skladišča za prognostične podatke, programske opreme za njihovo obdelavo, pripravo prognostičnih obvestil, razpošiljanje obvestil in spletne portale za obveščanje javnosti - sistem za opozarjanje in pomoč pridelovalcem pri odločanju. Prognostična služba mora in bo morala tudi v prihodnje neprestano izvajati usmerjene informacijske kampanje s strani strokovnih organizacij, v okviru katerih se bo promoviralo usmerjeno varstvo rastlin s kar se da racionalno (minimalno) rabo FFS.

2.4 Uvajanje izboljšanih tehnik za nanos FFS

S pomočjo stroke se bo potrebno posvetiti uvajanju izboljšanih tehnik nanosa FFS, pri čemer bo potrebno povečati delež naprav in opreme za zmanjšanje zanašanja FFS, stimulirati neprestano posodabljanje škropilne tehnike, vključno z uporabo šob za zmanjšanje zanašanja FFS, uvajati GPS sisteme (»*Precision farming*«) nadzora, vodenja in upravljanja naprav pri postopkih nanašanja FFS na večjih posestvih in uporabljati opremo in naprave, ki so v skladu z evropskimi standardi. Vsekakor pa se je potrebno posvetiti tudi izobraževanju uporabnikov FFS na področju postopkov in naprav za nanašanje FFS z vključenimi praktičnimi prikazi oz. demonstracijami v okviru »Centrov škropilne tehnike«.

2.5 Optimizacija tehnoloških ukrepov

Potrebno je poskrbeti za promocijo novih, okolju prijaznejših tehnoloških pristopov varstva rastlin in nenehno in učinkovito informiranje pridelovalcev s sprotnimi dogajanja na področju kmetijstva. V ta namen je potrebno ustrezno izkoristiti obstoječi kadrovskega potencial, ki deluje v okviru prognostične službe in poskrbeti za njegov nadaljnji razvoj in nemoteno delo.

Med tehnološkimi ukrepi, ki naj bi zagotavljali optimalno in za okolje čim manj obremenjujočo pridelavo se bo potrebno intenzivneje posvetiti vzpostavljanju varnostnih pasov "buffer zones" vzdolž vodotokov in drugih vodnih virov in prepovedi rabe FFS na območjih zajetij pitne vode in drugih okoljsko občutljivih območjih. Prav tako bo potrebno več pozornosti nameniti kolobarju, mehanskemu zatiranju plevelov, odbiri odpornih ali tolerantnih sort, intenziviranju higienskih ukrepov, pravočasnemu in ciljnemu tretiranju posameznih delov njiv, s pomočjo GPS (*Precision farming*) sistemov nadzora in upravljanja naprav in mehanizmom za upočasnitev razvoja odpornosti škodljivih organizmov na FFS z menjavanjem pripravkov, ki vsebujejo aktivne snovi z različnimi načini delovanja ter upoštevanjem največjega dovoljenega števila obravnavanj (tretiranj) in časovni interval med njimi.

2.6 Tesnejše sodelovanje specialistov za varstvo rastlin s svetovalno službo

Okrepiti je potrebno neposreden stik strokovnjakov s pridelovalci – organizacija tečajev, delavnic, delovnih krožkov itn. Veliko neizkoriščenih možnosti vidimo v uvedbi rednega, usmerjena izobraževanja oz. izpopolnjevanja svetovalcev na področju varstva rastlin in skupaj

z njimi oziroma preko njih tudi samih pridelovalcev. Mnenja smo, da je potrebno okrepiti sodelovanje svetovalne službe z javno opazovalno-napovedovalno službo in strokovnjaki s področja zdravstvenega varstva rastlin izven in tekom rastne sezone, za kar ob predpostavki boljšega razumevanja celotne problematike kmetijske pridelave in tesnejšega sodelovanja odgovornih, obstajajo realne možnosti.

2.7 Nadgradnja izobraževanja uporabnikov FFS v smeri manjše rabe FFS in varstva pri delu

Zmanjšanja rabe FFS ni mogoče doseči brez znanja in izkušenj pridelovalcev, zato je potrebno vzpostaviti permanentno izobraževanje in usposabljanje izvajalcev zdravstvenega varstva rastlin (profesionalnih in neprofesionalnih). Izobraževanje naj izvajajo le predavatelji z ustreznimi referencami s posameznih področij.

Izdelati je potrebno navodila za izvajanje integriranega varstva rastlin in jih stalno posodablјati. Enako velja za navodila, ki se nanašajo na ukrepanje zoper škodljive organizme v okviru ekološke pridelave kmetijskih rastlin. Okrepiti je potrebno delo strokovnih služb in povečati učinkovitost delovanja svetovalne službe.

Ocenjujemo, da bi se na področju pridobivanja strokovnega znanja in izkušenj z angažiranjem celotne stroke, svetovalne službe in spodbudami s strani administracije, dalo narediti korenite premike tako v ekološki zavesti pridelovalcev kot tudi v izboljšanju izvajanja samih tehnoloških ukrepov, ki bodo vodili k racionalnejši rabi FFS.

2.8 Sistematični nadzor nad ostanki FFS

V okviru sistematičnega nadzora si je potrebno zadati naslednje cilje:

- ostanki FFS v kmetijskih proizvodih ne smejo presegati zakonsko določenih minimalnih vrednosti (MRL) za posamezno aktivno snov,
- vsota ostankov vseh najdenih a.s. ne sme preseči 100 % ARFD (akutna referenčna doza) vrednosti za posamezno vrsto pridelka (v glavnem pri sadju in zelenjavi),
- med ostanki ne sme biti snovi, ki niso registrirane v Sloveniji,
- program monitoringa naj bo pripravljen tako, da bodo jasno določeni vzorci (vrsta in število) iz domače ali tuje pridelave.

2.9 Odstranjevanje ostankov embalaže in FFS

Pri odstranjevanju ostankov embalaže in FFS bo potrebno dosledno izvajati predpise in natančneje opredeliti obseg oz. število zbirnih centrov z ozirom na velikost oz. koncentracijo obdelovalnih površin, v okolici katerih se ti centri nahajajo (sprememba Uredbe o ravnanju z odpadnimi FFS, ki vsebujejo nevarne snovi (Ur.l. RS, št. 119/2006). Natančneje bo potrebno predpisati način ravnanja z odpadnimi FFS/embalažo, ki se zbira v teh centrih. Mnenja smo tudi, da je potrebno redno spremljanje količine pobranih odpadkov FFS/embalaže glede na količino prodanih FFS na določenem območju.

2.10 Žlahtnjenje in sortni izbor

Ustrezen nabor, na škodljive organizme odpornih oz. manj občutljivih sort, lahko pripomore k manjši rabi FFS. V ta namen je priporočljivo povečati ponudbo tovrstnih rastlin.

2.11 Trženje

Z ustreznimi marketinškimi pristopi je potrebno potrošnike stalno seznanjati z usmeritvami naše pridelave in jim objektivno predstaviti prednosti in slabosti različnih pristopov kmetijske pridelave, pri čemer je potrebno izvesti učinkovito informiranje potrošnikov o pomenu lokalnih oskrbovalnih verig in o tem, da zagotavljanje dovolj velikih količin hrane trenutno ni mogoče brez omejene, nujno potrebne uporabe FFS. Mnenja smo, da bi objektivna in strokovna ocena integrirane in ekološke pridelave doprinesla k miselnemu preboju ljudi (pridelovalcev in potrošnikov) in skladno s tem tudi k boljšemu stanju tudi na področju varstva rastlin. Potrebno se je usmeriti v intenziviranje povezovanja pridelovalcev oziroma v njihov skupni tržni nastop ter v razvoj novih oblik tržnih zadrug (verige od vrat do vrat, samopostrežni centri na kmetijah, paketna tedenska dostava itn.).

3 SKLEPI

Usmeritve, ki se nanašajo na izvedbo nacionalnega akcijskega načrta za zmanjševanje tveganj in vplivov uporabe FFS na zdravje ljudi in okolje morajo biti sestavni del nacionalne strategije kmetijstva, najpomembnejši cilji pa morajo biti uravnoteženi, kar pomeni, da je enako pomembno izboljševanje kazalcev glede obremenitev okolja s FFS, kot tudi zagotavljanje prehranske varnosti prebivalcev Slovenije in tudi varnosti pri delu s FFS pri ljudeh, ki te snovi uporabljajo. Zajeti morajo biti ukrepi, ki se nanašajo na tržno kot tudi ljubiteljsko pridelavo, kjer se trenutno vse prevečkrat soočamo z neustrezno rabo FFS, ki ogroža tako zdravje ljudi kot tudi okolje.

32

4 VIRI

Urek, G., Knapič, M., Urbančič Zemljič, M., Škerlavaj, V., Simončič, A., Persolja, J., Rak Cizej, M., Radišek, S., Lešnik, M. (2012) *Raba fitofarmaceutskih sredstev in preučitev možnosti za njihovo racionalnejšo uporabo v Sloveniji*. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije, 163 str.

UGOTAVLJANJE IN OCENA VPLIVOV RAZLIČNIH KMETIJSKO-PRIDELOVALNIH OBMOČIJ NA POJAVLJANJE OSTANKOV FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV V ČEBELJIH PRIDELKIH TER NJIHOV VPLIV NA RAZVOJ IN ZDRAVSTVENO STANJE ČEBEL

Peter KOZMUS¹, Andrej SIMONČIČ²

^{1,2} Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

IZVLEČEK

Na kmetijsko pridelovalnih območjih se za varstvo rastlin uporabljajo fitofarmacevtska sredstva (FFS), ki lahko onesnažijo cvetni prah kmetijskih in okoliških rastlin. Opraševalci zbirajo kontaminiran cvetni prah, ki lahko negativno vpliva na njihov razvoj in zdravstveno stanje. Vplivi so še zlasti opazni na čebeljih družinah. V triletni raziskavi smo ocenjevali kmetijske dejavnike, ki vplivajo na zdravstveno stanje in razvoj čebeljih družin. V okviru raziskave smo spremljali razvoj 90 čebeljih družin (glede spor *Nosema* spp. in virusov ABPV, SBV, DWV, BQCV) postavljenih na 30 lokacijah ter ugotavljali ostanke FFS v cvetnem prahu, pašnih čebelah in mrtvicah. Lokacije so bile razdeljene glede na tip prevladujoče kmetijske pridelave: a) intenzivno poljedelske lokacije (10 lokacij); b) intenzivno vinogradniške lokacije (4 lokacije); c) intenzivno sadjarske lokacije (6 lokacij) in d) lokacije z ekstenzivno kmetijsko pridelavo (10 lokacij). Z uporabo GC/MS in LC/MS/MS smo v letu 2009 analizirali 50 vzorcev cvetnega prahu na vsebnost 880 kemijskih spojin, v letu 2010 in 2011 pa 50 vzorcev cvetnega prahu na vsebnost 713 kemijskih spojin. V letu 2009 smo ostanke FFS v cvetnem prahu ugotovili na 12 lokacijah (40,0 %), v letu 2010 na 4 (13,3 %), v letu 2011 pa na 3 lokacijah (10 %). V letu 2009 smo ugotovili 15 različnih kemijskih spojin, v letu 2010 zgolj 2, v letu 2011 pa 5. Koncentracije ugotovljenih kemijskih spojin so bile od 0,011 mg/kg do 76,0 mg/kg. Največ različnih kemijskih spojin smo ugotovili na sadjarskih (12) in vinogradniških lokacijah (8). Glavnina ugotovljenih kemijskih spojin je pripadala skupini fungicidov (69 %). Aktivne spojine iz skupine insekticidov (klorpirifos–etil, metoksifenozid in tiakloprid) so bile ugotovljene na šestih preiskovanih lokacijah.

Ključne besede: cvetni prah, čebele, fitofarmacevtska sredstva, pesticidi

ABSTRACT

ESTIMATING THE INFLUENCE OF DIFFERENT AGRICULTURAL PRODUCTION AREAS ON THE APPEARANCE OF PESTICIDE RESIDUES IN THE BEE PRODUCTS AND THEIR INFLUENCE ON THE DEVELOPMENT AND HEALTH OF HONEY BEES

Plant protection in agricultural areas is performed using pesticides which could contaminate pollen of agricultural plants and that of plants in the surroundings. Pollinators collect contaminated pollen which may have negative impact on their development and health. The consequences are easily seen on honey bees. In a three-year investigation we estimated agricultural factors influencing honey bee health and colony development. In the investigation we monitored 90 honey bee (*Apis mellifera carnica*) colonies situated on 30 different

¹ dr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

² doc. dr., prav tam

locations for the presence of *Nosema* spp. and viruses (ABPV, SBV, DWV, BQCV) in the workers and for pesticide residues in pollen, old workers and dead bees. The locations were grouped with regard to the main agricultural production practice: a) intensive field production (10 locations); b) intensive viticulture production (4 locations); c) intensive fruit growing (6 locations); d) extensive agricultural production (10 locations). By means of GC/MS and LC/MS/MS, 50 pollen samples were analyzed for 880 chemicals in 2009 and 50 samples for 713 chemicals in 2010 and 2011. In 2009, residues were found in the pollen samples from 12 locations (40%), in 2010 they were found in those from 4 locations (13.3%) and in 2011 in those from 3 locations (10%). Fifteen different residues in pollen were found in 2009, only 2 of them in 2010 and 5 in 2011. Residues found in the pollen samples ranged from 0.011 mg/kg to 76.0 mg/kg. The highest number of residues (12) was found in the pollen from fruit growing and vineyard locations (8). The majority of the residues belonged to the fungicide group (69%). Insecticide residues (chlorpyrifos-ethyl, methoxifenocid and thiacloprid) were found in the pollen samples from six locations.

Key words: plant protection products, pollen, honey bees, pesticides

1 UVOD

V Sloveniji sta čebelarstvo in rastlinska pridelava tradicionalno dobro povezani dejavnosti, ki sta se pogosto izvajali na istih gospodarstvih. S specializacijo kmetijstva sta se dejavnosti ločili, neodvisnost med obema panogama pa ostaja, saj je rastlinska pridelava odvisna od dejavnosti oprashačevalcev, med katerimi so najpomembnejše čebele, čebelarstvo pa je odvisno od kmetijske krajine, ki čebelarstvu nudi pašo.

34

V letu 2008 je bilo v Sloveniji ugotovljeno obsežnejše propadanje čebeljih družin. Ob številnih možnih vzrokih (bolezni in zajedavci, spremenjena kmetijska praksa in nova sredstva za varstvo rastlin, podnebne spremembe, ...) ni bilo ugotovljeno, ali je bilo propadanje čebeljih družin predvsem posledica enega od njih, ali je šlo za kombinacijo več dejavnikov. Pri tem je ostala nepojasnjena tudi vloga intenzivnega kmetijstva, ki lahko vpliva na čebele tako prek setvene strukture in z njo povezane čebelje pašne, kot tudi prek rabe fitofarmaceutskih sredstev. Pojavile so se akutne zastrupitve pašnih čebel v bližini intenzivno obdelanih polj ter propadanje čebeljih družin na območjih z ekstenzivnimi načini kmetovanja. Po opravljenem pregledu zastrupitev in zbranimi podatki o propadanju čebeljih družin je bilo ugotovljeno, da je v prostoru prišlo do sočasnega pojava različnih dejavnikov, ki so lahko prispevali k odmiranju in zastrupitvam čebeljih družin:

- uvajanja rabe sistematičnih insekticidov, ki prehajajo v rastlinske sokove, nektar in cvetni prah,
- širjenja energetskih rastlin (oljna ogrščica), ki v večjem obsegu privablja čebele na območja z najintenzivnejšim kmetovanjem in
- spreminjanja podnebja, ki se kaže v daljših brezpašnih obdobjih tako v pomladanskem kot v poletnem času in lahko tudi vpliva na razvoj in širjenje čebeljih zajedavcev ter bolezni (*Varoa destructor*, *Nosema ceranae*, različni virusi).

Zaradi sočasnega pojava več dejavnikov ni bilo znano, kakšno vlogo ima pri propadanju intenzivno kmetovanje. Z namenom, da bi ugotovili kolikšna je ta vloga smo vzpostavili monitoring, čebeljih družin na 30 lokacijah z različno kmetijsko rabo (intenzivno sadjarstvo, intenzivno poljedelstvo, intenzivno vinogradništvo in ekstenzivno kmetijstvo). Na teh lokacijah smo v letu 2009 in 2010 spremljali kmetijsko dejavnost ter stanje čebeljih družin, zbirali in analizirali ostanke fitofarmaceutskih sredstev v cvetnem prahu in v čebelah ter izvedli palinološke preiskave cvetnega prahu.

2 MATERIAL IN METODE

V raziskavo je bilo vključenih 90 čebeljih družin na 30 lokacijah a) intenzivne poljedelske lokacije (10 lokacij); b) intenzivne vinogradniške lokacije (4 lokacije); c) intenzivne sadjarske lokacije (6 lokacij) in d) lokacije z ekstenzivno kmetijsko pridelavo (10 lokacij). Na teh lokacijah smo spremljali razvoj in zdravstveno stanje čebeljih družin, poleg tega pa smo vzorčili cvetni prah, ki smo ga kemijsko in palinološko analizirali. Zbrane vzorce smo do začetka analiz shranjevali v hladilnici na -20°C .

2.1 Zbiranje cvetnega prahu

Cvetni prah smo vzorčili od 30. aprila do 6. avgusta. Skupaj smo v letih od 2009 do 2012 zbrali 152 vzorcev cvetnega prahu. Cvetni prah smo vzorčili v plastične posode, ki so bile z vidika kontaminacije ustrezne. Zbrane vzorce smo do prispetja do hladilnice prenašali v hladilni torbi. Zbrani vzorci so bili pregledani glede ostankov FFS ter rastlinske sestave.

2.2 Palinološka analiza

Vsak vzorec cvetnega prahu smo razdelili na več podvzorcev, ki so tehtali 2 – 3 g. Nato smo posamezne podvzorce prelili z destilirano vodo in pustili, da se je cvetni prah homogeniziral. Nato smo raztopino ob mešanju, s pipeto prenesli na objektno steklo in določili ter prešteli pelodna zrna. Število najdenih pelodnih zrn smo nato preračunali v odstotke glede na posamezno vrsto rastlin. Pri rastlinskih vrstah, ki jih s pelodno analizo težje določimo, smo podali odstotek družine ali poddružine rastlin.

2.3 Kemijska analiza

V analizi smo uporabili 20 g zbranega cvetnega prahu, ki smo ga z uporabo GC/MS in LC/MS/MS v letu 2009 analizirali na vsebnost 880 kemijskih spojin, v letu 2010 in 2012 pa na vsebnost 713 kemijskih spojin. V letu 2009 in 2011 smo analizirali 50 vzorcev cvetnega prahu v letu 2010 pa 52.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Kemijske analize cvetnega prahu

V letu 2009 smo ostanke pesticidov zasledili v vzorcih cvetnega prahu iz 12 lokacij, v letu 2010 iz 4-ih lokacij in v letu 2011 v vzorcih iz treh lokacij. Skupaj je bilo ugotovljenih 15 različnih ostankov FFS v vzorcih iz leta 2009, 2 iz leta 2010 in 5 iz leta 2011. Količina ugotovljenih ostankov v vzorcih cvetnega prahu je nihala med 0,001 mg/kg do 76 mg/kg. Največ aktivnih snovi je bilo najdenih na sadjarskih (12) in vinogradniških lokacijah (8). Ostanke so v glavnini primerov izhajali iz skupine fungicidov (69 %). Ostanke insekticidov (klorpirifos-etil, metoksifenozidin in tiakloprid) so bili ugotovljeni v vzorcih cvetnega prahu iz osmih lokacij. Po analizi smo ugotovili, da je do kontaminacije cvetnega prahu v večini primerov prišlo zaradi zanosu škroplilne brozge iz ciljnega posevka/nasada na cvetočo podrast ali na okoliške cvetoče rastline (preglednica 1).

Preglednica 1: Seznam lokacij na katerih so bili zbrani kontaminirani vzorci cvetnega prahu ter ugotovljen način kontaminacije vzorcev cvetnega prahu. (P-poljedelstvo; S-sadjarstvo; V-vinogradništvo; E-ekstenzivno kmetijstvo)

Table 1: List of locations where contaminated pollen was collected, and the type of pollen contamination with PPP.

lokacija	tip l.	ugotovljena akt. snov (mg/kg)	uporabljeno sredstvo	tip sredstva	način kontaminacije
PONIKVA	P	metoksifenozid 0,43	Runner 240 sc	insekticid	endodrift
		kaptan 76,00	Merpan 50 wp	fungicid	endodrift in/ali eksodrift
		Tiakloprid 0,029	Calypso sc 480	insekticid	
RAKIČAN	P	Tiakloprid 0,002	Biscaya	insekticid	škropljenje v cvet
		Terbutilazin 0,001	Lumax ali Primextra gold	herbicid	eksodrift
		Heksitiazoks 0,001	Nissorun	akaricid	eksodrift
		s-metolaklor 0,029	Dual gold, Lumax Primextra tz gold	herbicid,	eksodrift
VIRŠTANJ	V	folpet 2,1	Fantic f wg, Melody combi wp, Mikal flash	fungicid	nabiranje cvetnega prahu na vinski trti in/ali endodrift
		klorotalonil 0,094	Bravo 500 sc	fungicid	
		spiroksamin 0,011	Falcon ec 460	fungicid	
		Folpet 0,04	Glej zgoraj.	fungicid	endodrift
JERUZALEM	V	dimetomorf	Forum star	fungicid	endodrift
		folpet			
		ciprodinil	Switch 62,5 wg	fungicid	
		iprovalikarb	Melody duo wp 66,8	fungicid	
		kaptan	Merpan 50 wp	fungicid	
		klorpirifos-etil 0,023	Pyrinex 25 cs	insekticid	
JAKOBSKI DOL	V	dimetomorf 0,09	Forum star	fungicid	endodrift
		iprovalikarb 0,078	Melody duo wp 66,8	fungicid	
LUKOVICA	S	flukvinkonazol 0,088	Clarinet	fungicid	endodrift
		pirimetanil 0,25			
		klorpirifos-etil 0,98	Pyrinex 25 cs	insekticid	
		Kaptan 0,09	Merpan 50 wp	fungicid	
RESJE	S	kaptan 0,19	Merpan 50 wp	fungicid	endodrift in/ali eksodrift
		klorpirifos-eti 0,18	Pyrinex 25 cs	insekticid	
		Ciprodinil 0,05	Chorus 50 WG Switch 62,5 WG	fungicid	endodrift
		Pirimetanil 0,01	Clarinet, Mythos, Pyrus 400 SC	fungicid	endodrift
HOČE	S	dimetomorf 0,019	Forum star	fungicid	endodrift in/ali eksodrift
		folpet 0,073			
		spiroksamin 0,033	Falcon ec 460	fungicid	eksodrift
		tebukonazol 0,068			
		triadimenol 0,038			
		pirimetanil 0,039	Mythos	fungicid	endodrift in/ali eksodrift
		klorpirifos-etil 0,15	Pyrinex 25 cs	insekticid	
Terbutilazin 0,001	Lumax ali primextra gold	herbicid	eksodrift		
VALBURGA	S	metolaklor 0,022	Dual gold 960 ec Lumax, Primextra tz gold 500 sc	herbicid,	eksodrift pri škropljenju koruze na travnik
NOVA GORICA	V	dimetomorf 0,032	Forum star	fungicid	endodrift + vinska trta
		folpet 0,18			
		kumafos 0,075	Perizin, CheckMite	varoacid	
RIMSKE	E	klorpirifos-etil 0,072	Pyrinex 25 cs	insekticid	endodrift in/ali

TOPLICE					eksodrift
ŠOŠTANJ	S	Kaptan 0,04	Merpan 50 wp	fungicid	endodrift
PONIKVA	P	Kaptan 0,80	Merpan 50 wp	fungicid	endodrift
ČRNI VRH	E	kumafos 0,075	Perizin CheckMite	varoacid	čebelar

4 SKLEPI

Ostanke FFS v cvetnem prahu smo v treh letih ugotovili v 21 vzorcih od 150-tih (14 %). Največ ugotovljenih ostankov FFS je pripadalo spojinam iz skupine fungicidov (69 %) za zatiranje boleznih sadnega drevja in vinske trte. S tem v zvezi ugotavljamo, da večje tveganje za kontaminacijo cvetnega prahu predstavlja sadjarska in vinogradniška dejavnost v primerjavi z intenzivno poljedelsko pridelavo.

V večini primerov je do kontaminacije cvetnega prahu s FFS prišlo zaradi zanašanja škropiva na cvetočo podrast in v manjši meri zaradi zanašanja škropiva iz škropljene površine na sosednje cvetoče gojene rastline. S tem v zvezi ugotavljamo, da je glavni razlog za kontaminacijo cvetnega prahu nedosledno upoštevanje dobre kmetijske prakse, ter storjene napake pridelovalcev pri škropljenju.

Na podlagi rezultatov ugotavljamo, da so se čebelje družine na vseh tipih lokacijah dobro razvijale in med različnimi tipi lokacij v letih od 2009 do 2012 ni bilo ugotovljenih razlik v zdravstvenem stanju in razvoju posameznih čebeljih družin.

Na podlagi opravljene tro-letne raziskave o vplivih FFS ter vrste kmetijske pridelave na čebelje družine nismo ugotovili negativnih posledic intenzivnega kmetovanja in posledično uporabe FFS na razvoj in zdravstveno stanje čebeljih družin.

FUNGISTATIČNI UČINEK IZBRANIH HERBICIDOV IN FUNGICIDOV NA ENTOMOPATOGENO GLIVO *Beauveria bassiana*

Franci Aco CELAR¹, Katarina KOS²

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

IZVLEČEK

V *in vitro* pogojih smo preučevali fungistatične učinke štirih herbicidov (metribuzin, flurokloridon, pendimetalin, prosulfokarb) in šestih fungicidov (propineb, klorotalonil, bakrov hidroksid, mankozeb, metiram, fluazinam) na rast micelija entomopatogene glive *Beauveria bassiana* (ATCC 74040). Preučevana fitofarmacevtska sredstva (FFS) se pogosto uporabljajo v pridelavi krompirja. Fungistatične učinke izbranih herbicidov in fungicidov na rast micelija smo ocenjevali v laboratorijskih razmerah pri različnih koncentracijah: 100, 75, 50, 25, 12,5 in 6,25 % priporočenega poljskega odmerka, na PDA agarah pri 20 °C. Glede na inhibicijo rasti micelija smo po toksikoloških testih preučevana FFS razvrstili v štiri razrede: 1 = neškodljiv (<25 % inhibicija), 2 = malo škodljiv (25 – 35 %), 3 = zmerno škodljiv (36 – 50 %), 4 = škodljiv (>50 %). Vsa preučevana FFS so imela fungistatičen učinek na glivo *B. bassiana* v odvisnosti od njihove koncentracije v mediju. Raziskava je pokazala, da je gliva *B. bassiana* zelo občutljiva na vse preizkušane herbicide, posebej pri priporočenih poljskih koncentracijah, pa tudi pri manjših odmerkih. Vsi preizkušani herbicidi in fungicidi (razen klorotalonila pri 50 % odmerku) so imeli pri 100, 75 in 50 % odmerku izrazit fungistatičen učinek (inhibicija rasti >50 %, inhibicijski razred 4). Poleg laboratorijskih testov s FFS bi morali izvajati vzporedne poskuse na pridelovalnih površinah, da bi dejansko izvednotili njihov ekološki vpliv na entomopatogeno glivo *B. bassiana*.

Ključne besede: *Beauveria bassiana*, herbicidi, fungicidi, inhibicija, rast micelija

ABSTRACT

THE FUNGISTATIC EFFECT OF SELECTED HERBICIDES AND FUNGICIDES ON THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Beauveria bassiana*

The *in vitro* fungistatic effect of four herbicides (metribuzin, flurochloridone, pendimethalin, prosulfocarb) and six fungicides (propineb, chlorothalonil, copper hydroxide, mancozeb, metiram, fluazinam) on mycelial growth of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (ATCC 74040). Tested pesticides are frequently used in potato crop production. Fungistatic effects of selected herbicides and fungicides on mycelial growth were evaluated at different concentrations: 100, 75, 50, 25, 12.5, 6.25 and 0% of recommended field application rate on PDA agar plates at 20°C under laboratory conditions. The pesticides tested were classified in 1-4 scoring categories based on reduction in mycelial growth: 1 = harmless (<25% reduction), 2 = slightly harmful (25-35%), 3 = moderately harmful (36-50%), 4 = harmful (>50%) in toxicity tests. All pesticides tested had fungistatic effect to *B. bassiana* at varying intensities depending on their concentrations in medium. The present study showed that *B. bassiana* was very sensitive to the herbicides tested, particularly at recommended as well as lower field dosage. All herbicides and fungicides (except of chlorothalonil at 50% dosage rate) tested at 100, 75 and 50% dosage rate showed strong fungistatic effect (inhibition of

¹ izr. prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana, e-pošta: franc.celar@bf.uni-lj.si

² asist. dr., prav tam

growth >50%; inhibition class 4). However, extensive field studies complemented by parallel laboratory experiments should consider assessing the interaction between selective herbicides and entomopathogenic *B. bassiana* isolates to evaluate their ecological impact in cropped environments.

Key words: *Beauveria bassiana*, herbicides, fungicides, inhibition, mycelial growth

1 UVOD

Številne entomopatogene glive imajo pomembno vlogo pri naravnem oziroma biotičnem uravnavanju populacij številnih vrst žuželk in pršic (Keller, 1991). Najbolj znana in preučevana entomopatogena gliva je *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., ki se povsod po svetu uporablja v številnih komercialnih biotičnih pripravkih, mikoinskticidih in mikoakaricidih (Inglis *et al.*, 2001). Od vseh 171 mikoinskticidov in mikoakaricidov, ki so jih razvili od leta 1960 do 2007, jih je kar 33,9 % na podlagi entomopatogene glive *B. bassiana* (Faria in Wraight, 2007).

V tleh na entomopatogene glive vplivajo številni talni organizmi, fizikalni in kemični dejavniki tal ter seveda agrokemikalije, ki jih človek pogosto uporablja v kmetijski pridelavi. Poleg tega na njihovo raznovrstnost in zastopanost vplivajo tudi rastlinske vrste v kolobarju, agrotehnični ukrepi, intenzivnost obdelave tal ter gnojenje z mineralnimi in organskimi gnojili (Shaparov in Kalvish, 1984; Groden in Lockwood, 1991; Hummel *et al.*, 2002; Klingen in Haukeland, 2006).

Kemična fitofarmacevtska sredstva (FFS) so antropogen okoljski dejavnik, ki sinergistično oziroma antagonistično deluje tako na škodljivce kot njihove patogene (entomopatogene glive) in posledično na njihovo učinkovitost (Benz, 1987). S pravilno odbiro FFS se lahko močno zmanjša njihovo škodljivo delovanje na entomopatogene glive (Luz *et al.*, 2007; Sterk *et al.*, 1999).

Redna uporaba številnih herbicidov v kmetijski pridelavi pogosto privede do njihove akumulacije v tleh in se posledično izraža v (ne)učinkovitosti vnesene entomopatogene glive *B. bassiana*. Da bi lahko vključili biotične pripravke na podlagi glive *B. bassiana* v integrirano varstvo rastlin, moramo predhodno poznati njeno kompatibilnost s kemičnimi FFS, med katerimi so tudi herbicidi (Ambethgar *et al.*, 2009).

Pri razvoju novih učinkovin (aktivnih snovi) FFS in pri ponovni registraciji starih, je v Evropski skupnosti vedno bolj pomembno preizkušanje ne-ciljnega delovanja FFS na koristne organizme. Pri mikrobiotičnih agensih, kot so entomopatogene glive, se preizkuša dve stvari, in sicer stranski učinki FFS (predvsem fungicidov) na same agense in delovanje agensov na druge koristne organizme (Sterk *et al.*, 2003).

Zaradi kompleksnosti naravnega okolja, stroškov in trajanja poljskih poskusov, je potrebno prve tipalne poskuse opraviti *in vitro* v laboratoriju, kjer lahko nadzorujemo vse dejavnike. Kljub temu dobljenih rezultatov ne moremo nekritično neposredno prenašati v kmetijsko prakso. Izbrana FFS moramo obvezno preizkusiti tudi v poljskih razmerah *in vivo*, kjer dokončno potrdimo ali zavrnemo ugotovitve laboratorijskih poskusov (Mietkiewski *et al.*, 1997; Moorhouse *et al.*, 1992).

V laboratorijskih in nekaterih poljskih poskusih so ugotovili, da so na splošno entomopatogene glive zelo občutljive na nekatere herbicide (Ambethgar *et al.*, 2009; Gardner in Storey, 1985; Harrison in Gardner, 1992; Keller, 1986; Mietkiewski *et al.*, 1989; Poprawski in Majchrowicz, 1995; Todorova *et al.*, 1998; Wardle in Parkinson, 1992).

V naših predhodnih laboratorijskih poskusih smo ugotovili, da imajo nekateri preučevani herbicidi močan inhibitory učinek na rast micelija entomopatogene glive *B. bassiana*, celo večji kot fungicidi (Celar *et al.*, 2011). Zaradi tega smo raziskavo razširili na še nekatere

druge, pogosto uporabljane herbicide v slovenski kmetijski pridelavi in rezultati le-teh so prikazani v pričujočem prispevku.

2 MATERIAL IN METODE

Testna metoda temelji na navodilih za testiranje stranskih učinkov FFS na glivo *B. bassiana* (Coremans-Pelseneer, 1994), s tem, da smo namesto konidijev uporabili koščke micelija in jih dali na agarne plošče z različno vsebnostjo izbranih herbicidov (Todorova *et al.*, 1998). V poskusu smo uporabili štiri herbicide in šest fungicidov (preglednica 1).

Preglednica 1: Osnovni podatki o herbicidih in fungicidih uporabljenih v laboratorijskem preizkušanju.

Pripravek	Učinkovina	Delež %	Odmerek na ha	Poraba vode l/ha (priporočeno)	DT ₅₀ * (tipično) IUPAC	PO* ml(g)/l	Proizvajalec
Boxer	prosulfokarb	80	5 L	300-400	11,9	5	Syngenta
Stomp 400 SC	pendimetalin	40	5 L	200-400	90	5	BASF SE
Sencor WG-70	metribuzin	70	1.5 kg	300-600	11,5	1,5	Bayer CS
Racer 25-EC	flurokloridon	25	4 L	300-600	53	4	Makhteshim Agan
Shirlan 500 SC	fluazinam	50	0,4 L	300-500	11	0,4	ISK Bioscience
Antracol WG 70	propineb	70	2,5 kg	400-600	3	2,5	Bayer CS
Champion 50 WG	bakrov hidroksid	50	2,5 kg	1000	10.000	2,5	Nufarm
Polyram DF	metiram	70	2 kg	1000	1	2	BASF SE
Bravo 500 SC	klorotalonil	50	3 L	1000	22	3	Syngenta
Dithane M-45	mankozeb	80	2,5	1000	0,1	2,5	Indofil Industries

* 100 % poljski odmerek v poskusu - koncentracija herbicida v gojišču

Entomopatogeno glivo *B. bassiana* smo s standardno metodo redčenja izolirali v čisti kulturi na krompirjevem dekstroznem agarju (PDA - Merck) iz pripravka Naturalis® (INTRACHEM Bio Italia S.p.A.), ki ima dovoljenje za uporabo v R Sloveniji. Pripravek vsebuje izolat ATCC 74040 glive *B. bassiana*.

Tik pred strjevanjem smo v sterilno PDA gojišče dodali različne količine izbranih herbicidov in fungicidov; 100 % hektarski odmerek, 75 %, 50 %, 25 %, 12,5 % in 6,25 %. Tako pripravljeno gojišče smo razlili v sterilne petrijevke premera 90 mm, po 15 ml v vsako. Priporočena poraba vode se za posamezne pripravke giblje med 200 in 1000 litri (povprečje za herbicide je okoli 300 l, za fungicide 800 l). V poskusu smo za pripravo herbicidnih /fungicidnih raztopin oziroma agarnih plošč porabo vode poenotili na 1000 litrov vode na hektar. Tako so bile začetne laboratorijske koncentracije v agarnih ploščah v povprečju nekajkrat manjše kot bi bile v dejanski škropilni brozgi. Npr., če je hektarski odmerek herbicida Boxer 5 litrov, je bila začetna oziroma maksimalna koncentracija herbicida v gojišču 0,5 %. Kontrolno obravnavanje je bilo brez dodanega herbicida.

Na pripravljene agarne plošče smo nacepili koščke (ø 5 mm) 14 dni stare kulture glive *B. bassiana* gojene na PDA gojišču, v temi pri temperaturi 25 °C. Za vsako obravnavanje smo imeli pet ponovitev. Inokulirane agarne plošče smo inkubirali v popolni temi, v rastni komori, pri 20 °C ter pri 60 % r.v.z. Površinske priraste micelija smo ugotavljali po 14 dneh s pomočjo analizatorja slike (Nikon NIS Elements BR 2.30). Za vsak pripravek in vsako koncentracijo smo izračunali odstotek inhibicije rasti micelija v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem. Odstotek inhibicije smo izračunali po naslednji formuli:

$$I(\%) = \frac{K - FFS}{K} \cdot 100$$

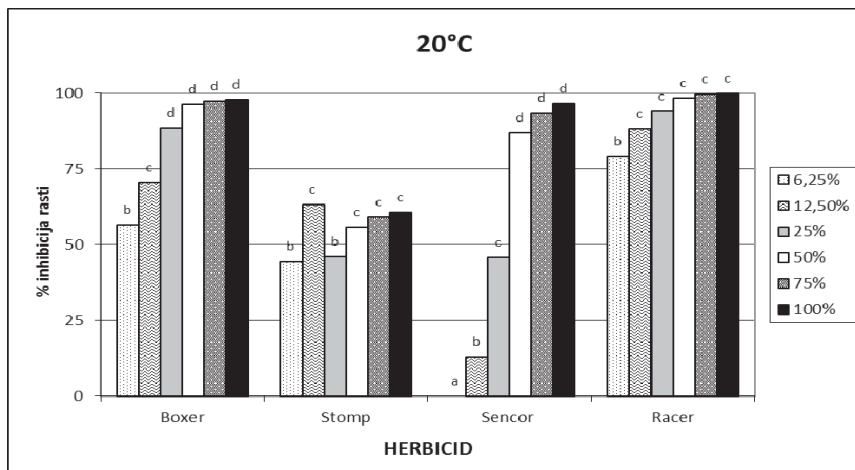
I(%) – odstotek inhibicije; K – površina micelija v kontrolnem obravnavanju; FFS – površina micelija v obravnavanju s fitofarmaceutskim sredstvom.

Glede na povprečen odstotek inhibicije smo posamezna obravnavanja razvrstili v štiri razrede: razred 1: neškodljiv (<25 %); razred 2: malo škodljiv (25-35 %); razred 3: zmerno škodljiv (36-50 %); in razred 4: škodljiv (>50 %) (Ambethgar *et al.*, 2009)). Dobljene rezultate smo statistično iz vrednotili s pomočjo Student-Newman-Keuls testa pri 5 % tveganju (Statgraphics Plus Professional).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Na sliki 1 so prikazani povprečni relativni prirasti micelija glive na agarnih ploščah, ki so vsebovale različne herbicide v šestih odmerkih. Vsi preučevani herbicidi so močno zavirali rast micelija glive *B. bassiana*. Inhibicija rasti je bila odvisna tako od herbicida kot odmerka. Pri odmerkih, ki so večji od 50 %, imajo vsi herbicidi izrazito škodljiv učinek (inhibicija >50 %, razred 4), pri fluorokloridonu (Racer) in prosulfokarbu (Boxer) pa celo pri vseh odmerkih. Pripravka Boxer (prosulfokarb) in Sencor (metribuzin) sta pri višjih odmerkih skoraj popolnoma zavrla rast glive, pri pripravku Racer pa gliva niti ni rastla, kar kaže na fungicidni učinek fluorokloridona. Izmed vseh preizkušanih herbicidov je le pripravek Stomp pri vseh odmerkih nekoliko manj zaviral priraščanje glive *B. bassiana*, vendar je bila kljub temu inhibicija v povprečju okoli 50 odstotna (slika 1, preglednica 2). Vsi preučevani herbicidi so imeli tudi pri najnižjem odmerku močan fungistatičen učinek (inhibicija 44 – 79 %, inhibicijski razred 3 – 4). Če si ogledamo uvrščenost posameznih obravnavanj po razredih škodljivosti (preglednica 2) ugotovimo, da so vsi herbicidi zelo škodljivi za glivo *B. bassiana* do 50 % začetnega odmerka (razred 4). Pri vseh herbicidih nismo ugotovili statistično značilnih razlik v inhibiciji rasti micelija med odmerki, ki so večji ali enaki 50 % osnovnega oziroma priporočenega.

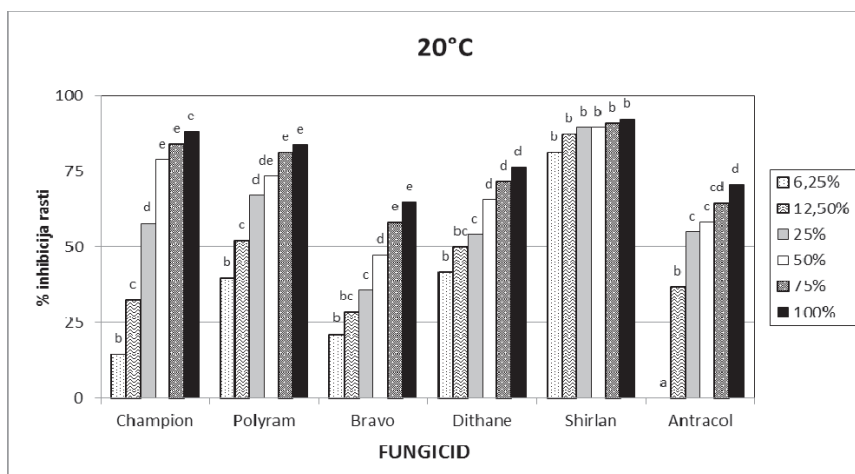
Začetni tako imenovani 100 % poljski odmerek oziroma koncentracija, je bila pri našem poskusu izračunana na predpostavki, da je poraba vode 1000 litrov na hektar. Iz preglednice 1 je razvidno, da je priporočena poraba vode s strani proizvajalcev pri različnih herbicidih 2 do 5-krat manjša (200 – 500 litrov) in zato je dejanska koncentracija škropilne brozge na polju za tolikokrat večja. Za to smo se odločili, da bi bile začetne, pa tudi zmanjšane koncentracije med različnimi pripravki med seboj primerljive. Gliva *B. bassiana*, ki jo vdelamo v tla, ni nikoli izpostavljena osnovni koncentraciji pripravka, zato tudi naša največja koncentracija (100 %) herbicidov v agarnih ploščah, dejansko pomeni le 20 do 50 % koncentracije v herbicidni škropilni brozgi (odvisno od herbicida), ki jo uporabljamo za tretiranje na polju. Na ta način smo hoteli simulirati pogoje, ki nastanejo v tleh po aplikaciji herbicidov (delna vezava na glinene in humusne delce, mikrobiotična in kemična razgradnja, izpiranje, razredčevanje zaradi padavin ipd.). Poleg tega nas je zanimalo ali lahko zelo majhne količine ostankov herbicidov negativno vplivajo na entomopatogeno glivo *B. bassiana*. Slednje je zelo pomembno, ker bi lahko ostanki herbicidov, ki smo jih uporabili v predposevku, vplivali na učinkovitost pripravka na podlagi glive *B. bassiana*, uporabljenega v trenutnem posevku. Rezultati poskusa so potrdili, da je bila naša odločitev pravilna, saj so imeli vsi preučevani herbicidi že pri zelo nizkih odmerkih izrazit fungistatičen učinek.



Slika 1: Povprečna relativna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* pri različnih herbicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolo izraženi v % (kontrola je 0 %) pri 20°C po 14 dneh (različne črke pomenijo statistično značilne razlike v priraščanju micelija pri različnih koncentracijah v okviru enega herbicida).

Podobno kot herbicidi so tudi fungicidi pri višjih odmerkih močno zavirali rast glive *B. bassiana* (inhibicija > 50%), pri nižjih pa se je fugistatičen učinek zlagoma zmanjševal (slika 2). Shirlan je imel pri vseh preučevanih koncentracijah (6,25 – 100 %) enak in zelo zaviralen učinek. Pri vseh fungicidih in odmerkih, ki so bili večji ali enaki od 75 % priporočenega, ni bilo signifikantnih razlik v stopnji inhibicije (slika 2). Če si ogledamo uvrščenost posameznih obravnavanj po razredih škodljivosti ugotovimo, da so vsi fungicidi zelo škodljivi (razred 4) za glivo *B. bassiana* do vključno 25 % osnovnega odmerka, z izjemo klorotalonila (Bravo), ki pa je bil pri tem in 50 % odmerku uvrščen v 3. inhibicijski razred.

42



Slika 2: Povprečna relativna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* pri različnih fungicidih in koncentracijah v primerjavi s kontrolo izraženi v % (kontrola je 0 %) pri 20 °C po 14 dneh (različne črke pomenijo statistično značilne razlike v priraščanju micelija pri različnih koncentracijah v okviru enega fungicida).

Preglednica 2: Odstotek povprečne inhibicije rasti micelija glive *B. bassiana* pri različnih herbicidih in fungicidih ter koncentracijah v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem pri 20 °C po 14 dneh ter razdelitev v posamezne razrede glede na obseg inhibicije.

Aktivna snov	Inhibicija ^R 100%	Inhibicija ^R 75%	Inhibicija ^R 50%	Inhibicija ^R 25%	Inhibicija ^R 12,5%	Inhibicija ^R 6,25%
metribuzin	96,55 ⁴	93,56 ⁴	86,87 ⁴	45,74 ³	13,12 ¹	-0,45 ¹
flurokloridon	100,00 ⁴	99,76 ⁴	98,42 ⁴	94,10 ⁴	88,28 ⁴	79,14 ⁴
pendimetalin	60,57 ⁴	59,07 ⁴	55,74 ⁴	45,98 ³	63,36 ⁴	44,48 ³
prosulfokarb	97,87 ⁴	97,50 ⁴	96,31 ⁴	88,50 ⁴	70,57 ⁴	56,59 ⁴
propineb	70,67 ⁴	64,52 ⁴	58,26 ⁴	55,00 ⁴	36,73 ³	-8,67 ¹
klorotalonil	64,82 ⁴	58,13 ⁴	47,39 ³	35,66 ³	28,54 ²	21,28 ¹
bakreni hidroksid	88,09 ⁴	83,95 ⁴	78,85 ⁴	57,83 ⁴	32,53 ³	14,58 ¹
mankozeb	76,33 ⁴	71,58 ⁴	65,60 ⁴	54,04 ⁴	49,91 ³	41,63 ³
metiram	83,81 ⁴	81,35 ⁴	73,33 ⁴	66,94 ⁴	52,14 ⁴	39,79 ³
fluazinam	92,16 ⁴	90,81 ⁴	89,49 ⁴	89,52 ⁴	87,38 ⁴	81,23 ⁴

Legenda: R– razred inhibicije: 1. razred: neškodljiv (<25 %); 2. razred: malo škodljiv (25-35 %); 3. razred: zmerno škodljiv (36-50 %) in 4. razred: škodljiv (>50 %)

Klingen in Haukeland (2006) sta, po pregledu rezultatov številnih objavljenih raziskav ugotovila, da na entomopatogeno glivo *B. bassiana* najbolj negativno delujejo fungicidi, medtem ko imajo insekticidi in herbicidi fungistatičen učinek. Negativne učinke herbicidov, predvsem talnih, na rast in sporulacijo glive *B. bassiana*, je potrdilo več raziskovalcev (Ambethgar, 2009; Gardner in Storey, 1985; Harrison in Gardner, 1992; Mietkiewski *et al.*, 1989; Poprawski in Majchrowicz, 1995; Todorova *et al.*, 1998; Wardle in Parkinson, 1992). V našem poskusu smo testirali herbicidne pripravke oziroma herbicidne učinkovine, ki jih drugi raziskovalci večinoma niso preizkušali.

Pred izvedbo poskusa smo pričakovali, da bodo fungicidi negativno vplivali na rast entomopatogene glive *B. bassiana*, kar je so potrdili tudi nekateri drugi raziskovalci (Sterk *et al.*, 2003). V našem poskusu se je izkazalo, da nekateri herbicidi delujejo še bolj fungistatično od preučevanih fungicidov, flurokloridon (Racer) celo fungicidno. Če glivo *B. bassiana* apliciramo v tla je herbicidom, predvsem talnim, močno izpostavljena. Ti herbicidi so formulirani tako, da se dobro vežejo na talne delce, kar onemogoča njihovo izpiranje. Poleg tega je njihova obstojnost in razpolovna doba (DT₅₀) daljša, s tem pa je povezano tudi dolgotrajnejše negativno delovanje na entomopatogeno glivo *B. bassiana*.

4 SKLEPI

Raziskava je pokazala, da je gliva *B. bassiana* zelo občutljiva na preizkušane herbicide in fungicide, posebej pri priporočenih poljskih odmerkih, pa tudi pri manjših. Nekateri herbicidi so delovali celo bolj fungistatično od testiranih fungicidov. Pri hkratni uporabi biotičnih pripravkov na podlagi entomopatogene glive *B. bassiana* in herbicidov znajo slednji zmanjšati biotično učinkovitost glive, predvsem talni herbicidi, ki so v tleh obstojnejši in je njihova razpolovna doba daljša. Laboratorijski rezultati dobljeni s tipalnimi poskusi na agarinih ploščah (*in vitro*) imajo omejeno uporabno vrednost in jih ne moremo neposredno prenesti v poljske razmere. Zaradi tega je potrebno rezultate dobljene v laboratoriju preveriti tudi s poskusi na samih pridelovalnih površinah (*in situ*). Poleg tega na fungistatično oziroma fungicidno delovanje pripravkov poleg aktivne snovi vpliva tudi formulacija pripravka (Morjan *et al.*, 2002), iz česar sledi, da rezultatov raziskav ne moremo posploševati oziroma prenašati na vse pripravke z isto aktivno snovjo.

5 ZAHVALA

Za finančno pomoč pri izvedbi raziskave se zahvaljujemo Upravi za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin v okviru Ministrstva za kmetijstvo in okolje. Zahvaljujemo se tudi podjetjem Karsia d.o.o., Bayer CropScience Slovenija in Syngenta Agro Slovenija za brezplačne vzorce herbicidnih in fungicidnih pripravkov uporabljenih v naši raziskavi.

6 LITERATURA

- Ambethgar, V., Swamiappan, M., Rabindra, R. J., Rabindran, R. 2009. Influence of some herbicides on in vitro vegetative growth of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Resistant Pest Management Newsletter* 19: 13-16.
- Benz, G. 1987. *Environment. V: Epizootiology of Insect Diseases* (ur. Fuxa, R. in Tanada, J.). Willey, New York: 177-214.
- Celar, F. A., Sekne, Š., Mesec, D., Kos, K. 2011. Učinek herbicidov in fungicidov na rast micelija entomopatogene glive *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. = Effect of selected herbicides and fungicides on mycelial growth of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. V: Maček, J., Trdan, S. (ur.). Zbornik predavanj in referatov 10. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Podčetrtek, 1.-2. marec 2011. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije = Plant Protection Society of Slovenia, 2011: 171-175.
- Coremans-Pelseneer, J., 1994. Laboratory tests on the entomopathogenic fungus *Beauveria*. *IOBC/WPRS Bull.* 1994/17/10: 147–154.
- Faria, M.R., Wraight, S.P., 2007. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A Comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control* 43, 237-256.
- Gardner, W. A., Storey, G. K. 1985. Sensitivity of *Beauveria bassiana* to selected herbicides. *J. Econ. Entomol.* 78: 1275-1279.
- Groden, E., Lockwood, J.L., 1991. Effects of soil fungistasis on *Beauveria bassiana* and its relationship to disease incidence in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, in Michigan and Rhode Island soils. *J. Invert. Path.* 57: 7-16.
- Harrison, R.D., Gardner, W.A. 1992. Fungistasis of *Beauveria bassiana* by selected herbicides in soil. *J. Entomol.* 27: 233-238.
- Hummel, R.L., Walgenbach, J.F., Barbercheck, M.E., Kennedy, G.G., Hoyt, G.D., Arellano, C. 2002. Effects of production practices on soil-borne entomopathogens in western North Carolina vegetable systems. *Environmental Entomology* 31: 84-91.
- Inglis, G.D., Goettel, M.S., Butt, T.M., Strasser, H. 2001. Use of Hyphomycetous Fungi for Managing Insect Pests. V: *Fungi as Biocontrol Agents – Progress, Problems and Potential* (ur. Butt, T.M., Jackson, C.W., Magan, N.). CABI Publishing, Wallingford: 23-69.
- Keller, S. 1986. Investigations on the effect of herbicides on aphid pathogenic Entomophthoraceae. V: *Ecology of Aphidophaga* (ur. Hodek, I.). Academia, Prague and Dordrecht: 493-497.
- Keller, S. 1991. Les maladies fongiques des ravageur et leur importance pratique. *Revue Suisse de viticulture, arboriculture, horticulture* 23: 299-310.
- Klingen, I., Haukeland, S., 2006. The soil as a reservoir for natural enemies of pest insects and mites with emphasis on fungi and nematodes. V: *An Ecological and Societal Approach to Biological Control* (ur. Eilenberg, J., Hokkanen, H.M.T.). Springer, Netherlands: 145–211.
- Luz, C., Bastos, N., Nunes, R. 2007. In vitro susceptibility to fungicides by invertebrate-pathogenic and saprobic fungi. *Mycopathologia* 164: 39-47.
- Mietkiewski, R.T., Pell, J.K., Clark, S.J. 1997. Influence of pesticide use on the natural occurrence of entomopathogenic fungi in arable soils in the UK: field and laboratory comparisons. *Biocontr. Sci. Technol.* 7: 565–575.
- Mietkiewski, R., Sapiecha, A., Mietkiewska, Z. 1989. Growth of entomopathogenic fungi on a medium containing herbicides used in orcharding. *Acta Mycology* 25: 35-50.
- Moorhouse, E.R., Gillespie, A.T., Sellers, E.K., Charnley, A.K. 1992. Influence of fungicides and insecticides on the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae*, a pathogen of the vine weevil, *Othiorhynchus sulcatus*. *Biocontrol Science and Technology* 2: 49-58.
- Morjan, W.E., Pedigo, L.P., Levis, L.C. 2002. Fungicidal effects glyphosate and glyphosate formulations on four species of entomological fungi. *Environmental Entomology* 31: 1206-1212.
- Poprawski, T.J., Majchrowicz, I. 1995. Effects of herbicides on in vitro vegetative growth and sporulation of entomopathogenic fungi. *Crop Protection* 14: 81-87.

- Shaparov, V.M., Kalvish, T.K., 1984. Effects of soil fungistasis on zoopathogenic fungi. *Mycopathology* 85: 121-128.
- Sterk, G., Hassan, S.A., Baillod, M., Bakker, F., Bigler, F., Blumel, S., Bogenschutz, H., Boller, E., Bromand, B., Brun, J., Calis, J.N.M., Coremans-Pelseneer, J., Duso, C., Garrido, A., Grove, A., Heimbach, U., Hokkanen, H., Jacas, J., Lewis, G., Moreth, L., Polgar, L., Roversti, L., Samsøe-Peterson, L., Sauphanor, B., Schaub, L., Staubli, A., Tuset, J.J., Vainio, A., Van de Veire, M., Viggiani, G., Vinuela, E., Vogt, H. 1999. Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS-Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. *BioControl* 44: 99-117.
- Sterk, G., Heuts, F., Merck, N., Bock, J. 2003. Sensitivity of non-target arthropods and beneficial fungal species to chemical and biological plant protection products: Results of laboratory and semi-field trials. V: 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods, Honolulu, 14-18 januar 2002, USDA Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team: 306-313.
- Todorova, S.I., Coderre, D., Duchesne, R.M. and Côté, J.C. 1998. Compatibility of *Beauveria bassiana* with selected fungicides and herbicides. *Biological Control* 27: 427-433.
- Wardle, D.A., Parkinson, D. 1992. The influence of the herbicide glyphosate on interspecific interactions between four soil fungal species. *Mycol. Res.* 96: 180-186.

DESET LET NADZORA FITOFTORNE SUŠICE VEJIC (*Phytophthora ramorum*) V SLOVENIJI

Metka ŽERJAV¹, Anita BENKO BELOGLAVEC²

¹ Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

² Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, Uprava RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

Tujerodna oomiceta *Phytophthora ramorum* (PR), ki povzroča fitoftorno sušico vejic, ima širok krog gostiteljev med lesnatimi okrasnimi rastlinami, okužuje pa tudi drevesa. Po Evropi se je razširila z okrasnimi rastlinami. Z namenom preprečevanja vnosa, se je v Sloveniji v letu 2003 začel nadzor nad boleznijo in v istem letu so bile odkrite prve okužene rastline. V desetletnem obdobju je bilo opravljenih 1895 pregledov okrasnih rastlin v drevesnicah, centrih za distribucijo, na prodajnih mestih, v parkih in vrtovih in tudi 2488 ogledov gozda. Analiziranih je bilo 1336 vzorcev rastlin, vode in tal. Do konca leta 2012 je bila PR 69-krat najdena v centrih za distribucijo okrasnih rastlin ali na prodajnih mestih. Vedno je šlo za rastline, ki niso bile pridelane v Sloveniji. Letno se je pojavila na dveh do 20 lokacijah, največkrat v letu 2007. Z letom 2009 je število najdb pričelo upadati. Trikrat se je bolezen pojavila v parku, dvakrat v drevesnici in enkrat na zasebnem vrtu, v gozdu nikoli. Okužene so bile največkrat rastline iz rodu *Rhododendron*, sledijo *Viburnum* spp., *Pieris japonica*, *Kalmia latifolia* in *Quercus rubra*. Vsaki pozitivni najdbi na rastišču so sledili fitosanitarni ukrepi za eradikacijo. Po ukrepih smo dve leti spremljali stanje na mestu najdbe in testirali tudi tla in vodo v okolici. PR v vodi nismo zaznali. V vseh primerih je bila eradikacija uspešna in bolezen se ni širila. Ponovne najdbe na istih lokacijah so bile povezane z novim vnosom okuženih rastlin, zato je uradni status PR v Sloveniji: prehodni: dejaven, pod nadzorom. Na okrasnih rastlinah smo zaznali okužbo še z 10 drugimi vrstami iz rodu *Phytophthora*. Med njimi ni bilo vrste *Phytophthora kernoviae*. Pogostost najdb kaže na slabo učinkovitost predpisanih ukrepov za omejevanje PR na mestu pridelave okrasnih rastlin in veliko verjetnost nadaljnjega vnosa okuženih rastlin.

Gljučne besede: fitoftorna sušica vejic, fitosanitarni ukrepi, nadzor, okrasne rastline, *Phytophthora ramorum*, Slovenija

ABSTRACT

TEN YEARS OF *Phytophthora ramorum* SURVEY IN SLOVENIA

The oomycete *Phytophthora ramorum* (PR) can infect a wide range of different woody ornamental plants and trees. It causes leaf blight, dieback or bleeding cankers on trees. It spread over Europe by horticultural trade. The survey for PR was initiated in 2003 to prevent its introduction into Slovenia. First infected plants were found in the same year. There were 1895 inspections in nurseries, garden centres, plant distribution centres, parks and gardens as well as 2488 inspections in forests over the ten-year period; 1336 plant, soil and water samples were analysed. PR was found 69 times in distribution or garden centres. All infected plants originated from other European countries. The number of locations with infected plants

¹ univ. dipl. inž. agr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., Dunajska 22, SI-1000 Ljubljana

ranged yearly from 2 to 20 with the highest number of findings in 2007. The number of positive findings started to decrease in 2009. PR was three times detected in parks, two times in nurseries, once in a private garden but never in forests. *Pieris japonica*, *Kalmia latifolia*, *Quercus rubra* and various *Rhododendron* and *Viburnum* species were infected, most often rhododendrons. Prompt phytosanitary actions followed after PR was positively identified. Subsequently, the PR positive locations were monitored for two years. Nearby water sources were also tested but PR could not be detected there. The eradication was successful but disease reappeared on some locations due to new introductions. A status of PR can be described as transient: actionable, under eradication. Ten other *Phytophthora* species were also found on ornamental plants but *P. kernoviae* was not among them. The frequency of infected ornamental plants found in Slovenia reveals that PR is insufficiently controlled in the countries where the plants are produced for trade. Further introduction of infected plants can be expected.

Key words: ornamental plants, *Phytophthora ramorum*, Phytosanitary measures, Slovenia, survey

1 UVOD

47 Tujerodna oomiceta *Phytophthora ramorum* Werres, de Cock & Man in't Veld, ki povzroča fitoftorno sušico vejic, ima širok krog gostiteljev med lesnatimi okrasnimi rastlinami, okužuje pa tudi drevesa. Po letu 1995 je začela ogrožati zimzelene hraste v obalnih gozdovih Kalifornije in Oregona (Brassier in Webber, 2010). V Evropi se pojavlja od devetdesetih let, toda formalno je bila opisana kot nova vrsta šele leta 2001 (Werres in sod., 2001). Zaradi tveganja za evropske gozdove, je Komisija EU leta 2002 izdala Odločbo (2002/757/EC) o sprejetju začasnih izrednih fitosanitarnih ukrepov proti vnosu *P. ramorum* v Skupnost in njenemu širjenju v Skupnosti in pozneje še dopolnitve te odločbe, ki odreja obveznost pregledov občutljivih vrst in laboratorijsko preiskavo v primeru sumljivih bolezenskih znamenj. Ta se kažejo kot sušenje vej in poganjkov, pojav nekrotičnih peg na listih ali odmiranje skorje dreves z izcedkom, kar povzroča propadanje lesnatih rastlin iz številnih botaničnih družin. V Sloveniji odločbo Komisije in njihove dopolnitve povzema Pravilnik o fitosanitarnih ukrepih za preprečevanje vnosa in širjenja glive *Phytophthora ramorum*, Uradni list RS št. 120/04 in št. 88/07. Del pravilnika so tudi seznami gostiteljskih rastlin, za katere veljajo fitosanitarni postopki. Med domorodnimi gostiteljskimi rastlinami, ki so v Sloveniji pomembne z gospodarskega ali naravovarstvenega vidika, je več drevesnih vrst: beli javor, pravi kostanj, bukev, veliki jesen, vrste hrastov hrastov in druge. Predmet nadzora so tudi nekatere vrste, ki uradno niso uvrščene na seznam gostiteljskih rastlin, saj se krog gostiteljev iz leta v leto veča. Nove gostiteljske vrste so vsako leto navedene v letnem programu nadzora. Nadzor nad fitoftorno sušico vejic, kot imenujemo sklop bolezenskih znamenj, ki ga PR povzroča, se je v Sloveniji začel leta 2003. Glavni cilj je preprečevanje vnosa okuženih rastlin in širjenja bolezni. Prvi primeri bolezni so bili v Sloveniji odkriti v letu 2003 na rododendronih in brogovitah (Žerjav in sod., 2004). V Evropi je bila bolezen sprva razširjena le na lesnatih okrasnih rastlinah v drevesnicah, predvsem na rododendronih in brogovitah, na drevesnih vrstah (bukvev, kostanj, hrast) pa so bili do leta 2009 odkriti le posamezni primeri okužbe (EPPO, 2013). V letu 2009 se je pojavila na japonskem macesnu (*Larix kaempferi*) v gojenih gozdovih v jugozahodni Angliji in povzročila njihovo obširno sušenje (Webber in sod., 2010).

2 MATERIAL IN METODE

V nadzoru so sodelovali Fitosanitarna inšpekcija, Gozdarski inštitut Slovenije, Zavod za gozdove Slovenije in Kmetijski Inštitut Slovenije. Poleg pregledov in identifikacije

povzročitelja bolezni so izvajalci nadzora tudi pripravljali načrte za ukrepanje v primerih najdbe okuženih rastlin in svetovali imetnikom rastlin, poročali Komisiji ES o rezultatih nadzora ter o bolezni informirali imetnike rastlin in strokovno javnost s poljudnimi in strokovnimi članki, predavanji in delavnicami. Fitosanitarna inšpekcija je ob najdbah izdala odločbe o ukrepih, nadzirala izvajanje in spremljala stanje po opravljenih ukrepih.

2.1 Pregledi

Predmet pregleda so bile gostiteljske rastline, opredeljene v letnem programu nadzora, tla na območjih, kjer so bile najdene okužene rastline ali pa so bila večkrat v stiku z gostiteljskimi rastlinami in stoječe ali tekoče vode v ribnikih in potokih na območjih s povečanim tveganjem (npr. v bližini najdb okuženih rastlin, v bližini drevesnic). Pregledi so potekali vsako leto od marca do novembra. V objektih za pridelovanje sadilnega materiala sta bila obvezna dva pregleda letno v času aktivne rasti. Gostiteljske rastline so pregledniki opazovali v vrtnih centrih in na drugih prodajnih mestih, v skladiščih okrasnih rastlin, v drevesnicah, parkih, vrtovih, na javnih zasajenih površinah in v gozdu. Vzorčenje bolezni s simptomi je ključno za nadzor, ker zgolj s pregledom *PR* ne moremo potrditi, saj se podobni bolezenski znaki pojavijo tudi po okužbi z drugimi vrstami rodu *Phytophthora*.

2.2 Laboratorijska diagnostika

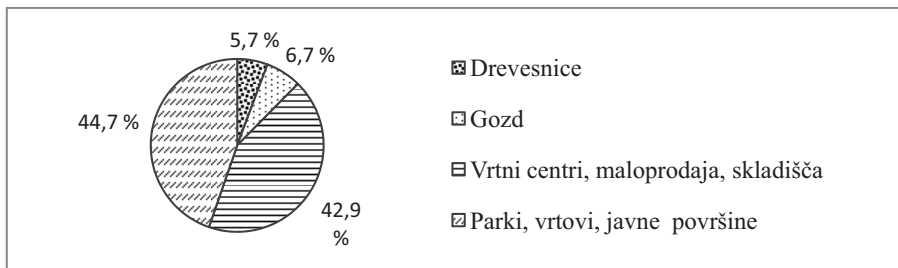
Za detekcijo in identifikacijo smo uporabljali metode opisane v EPPO diagnostičnem protokolu (EPPO Bulletin, 2006). Večina vzorcev rastlin v nadzoru je bila pregledana z metodo izolacije na semiselektivno gojišče *P₅ARP* in na korenjev agar (CPA) in z opazovanjem morfoloških značilnosti izolatov po 5-10 dneh. Za rastlinske vzorce ali čisto kulturo *PR* smo uporabljali tudi tehniko PCR po metodi, ki sta jo opisala Wagner in Werres, 2004. Vzorce vode in tal smo preiskovali s tehniko vabe.

48

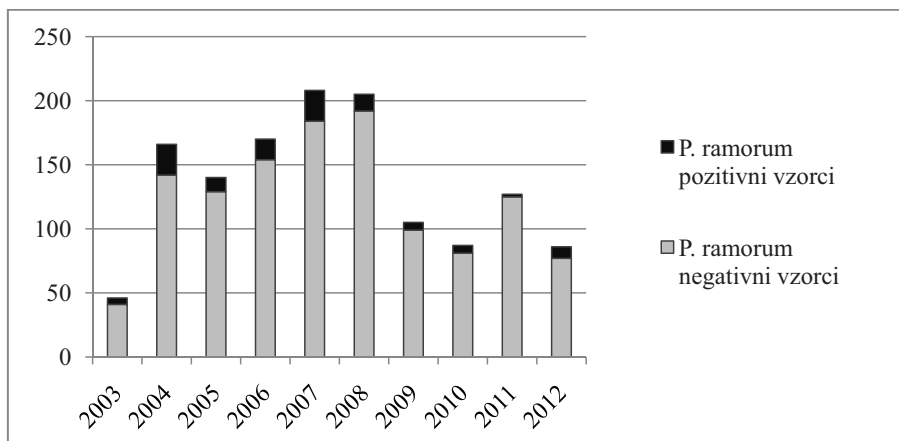
3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V desetletnem obdobju je bilo opravljenih 1895 pregledov okrasnih rastlin v drevesnicah, centrih za distribucijo, na prodajnih mestih, v parkih in vrtovih in tudi 2488 ogledov gozda. Od skupnega števila 1336 analiziranih vzorcev je bilo 1164 vzorcev rastlin, 105 vzorcev vode in 67 vzorcev tal.

Pregledovanje drevesnic je zelo pomembno za preprečevanje širjenja bolezni. V Sloveniji je pridelava gostiteljskih rastlin, kot so vresovke, brogovite in kamelije majhna in na trg prihajajo te rastline iz drugih evropskih držav. Velik del vzorčenja je zato potekal na prodajnih mestih, saj je že nadzor v prvem letu pokazal, da je tam največ okuženih rastlin. Pregledi in vzorčenje v gozdu so bili usmerjeni pretežno v primestne gozdove in v okolico parkov, kjer je tveganje za pojav bolezni večje.



Slika 1: Odstotek vzorcev glede na lokacijo vzorčenja

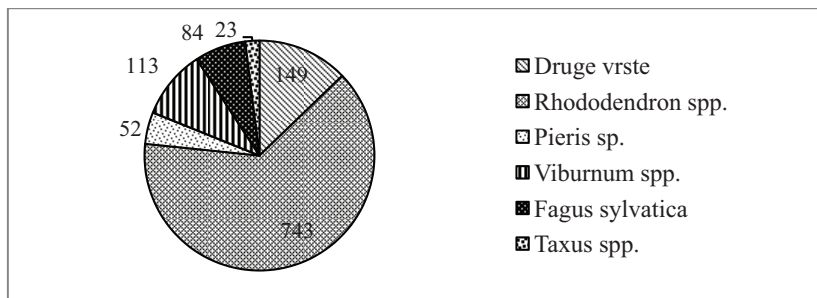


Slika 2: Število vseh pregledanih vzorcev in vzorcev okuženih s *P. ramorum* v letih 2003 do 2012

Med pregledanimi vzorci rastlin je bilo v povprečju 9,6 % okuženih s *PR*, med vzorci tal 5,9%. Pri analizi voda nismo ugotovili navzočnosti *PR*.

Število vzorcev posameznega rodu rastlin je povezano z občutljivostjo za okužbo in izraženostjo bolezenskih znamenj. Med vzorci rastlin so močno prevladovali rododendroni in druge vresovke (*Pieris*, *Kalmia*) ter brogovite.

49



Slika 3: Vzorčene rastline po botaničnih rodovih (n=1164)

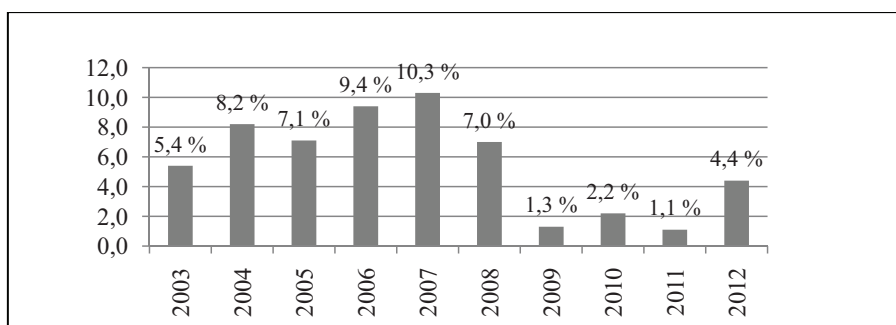
Preglednica 1: Vzorci s *P. ramorum* glede na gostiteljsko rastlino v letih 2003-2012

Vrsta rastline	Št. vzorcev okuženih s <i>P. ramorum</i>
<i>Rhododendron</i> spp.	91
<i>Viburnum</i> spp.	12
<i>Pieris japonica</i>	5
<i>Kalmia latifolia</i>	3
<i>Quercus rubra</i>	1
Vzorci tal	4
Skupaj	116

Pri 1498 pregledih prodajnih mest in drevesnic je bila fitoftorna sušica vejic 69-krat najdena na prodajnih mestih in le dvakrat v drevesnici. Ugotovljena je bila v dveh parkih in enkrat v zasebnem vrtu. V vseh primerih so bili izbruhi bolezni povezani z vnosi okuženih okrasnih rastlin iz drugih evropskih držav. V času nadzora je bil odkrit le en primer širjenja na rastline

na stalnem rastišču. Leta 2005 so se posušile preko 20 let stare brogovite (*Viburnum x bodnantense*), ki so rasle ob ograji drevesnice, v kateri je bila dve leti pred tem ugotovljena okužba sadik brogovit. Šest mesecev po izvedbi ukrepov za eradikacijo smo tam v vzorcih tal še detektirali *P. ramorum*, po enem letu pa so bili vsi vzorci negativni. Tudi preiskave vode v bližnjih vodnih telesih niso pokazale navzočnosti *PR*. Mesta najdb so bila opazovano še dve leti po izvedbi ukrepov. Na nekaterih lokacijah se je bolezen ponovila a je bil pojav povezan z novim vnosom okuženih rastlin. Ukrepi za eradikacijo so bili v vseh primerih pojava fitoftorne sušice vejic uspešni. Uspeh gre pripisati dejstvu, da je šlo za hitro odkrite in zelo omejene pojave bolezni.

Pri pregledu gozda je bilo odvzetih za laboratorijski pregled 90 vzorcev. V nobenem vzorcu nismo našli povzročitelja fitoftorne sušice vejic. Pri drevesih bukve z nekrozami in izcedki smo najpogosteje diagnosticirali okužbo s fitoforama *P. plurivora* in *P. cambivora*. Na okrasnih rastlinah smo zaznali okužbo z 10 različnimi *Phytophthora* vrstami. Med njimi ni bilo vrste *P. kernoviae*.



Slika 4: Odstotek pregledov z najdbi fitoftorne sušice vejic na prodajnih mestih, v skladiščih in drevesnicah

PR se je letno pojavila na dveh do 20 lokacijah, največkrat v letu 2007. Število najdb je z letom 2009 pričelo upadati, za kar je lahko več vzrokov: izboljšanje zdravstvenega stanja okrasnih rastlin na mestu pridelave, več neodkritih latentnih okužb zaradi uporabe fungicidov, manj gostiteljskih okrasnih rastlin na trgu.

4 SKLEPI

Večina okuženih rastlin v Sloveniji je bila najdenih na prodajnih mestih na okrasnih rastlinah, ki so izvirale iz drugih držav članic EU oziroma je bil pojav povezan z njimi. V gozdu ni bilo primerov pojava *PR*, tudi v vodah je nismo zaznali. Bolezen se ni razširila na gojene ali samonikle rastline. Nadzor, kot ga predpisuje odločba 2002/757/EC ni dovolj učinkovit saj ukrepi ne preprečujejo širjenja bolezni na mestu pridelave okrasnih rastlin. Čeprav je po letu 2009 število najdb bolezni upadlo, še obstaja tveganje za vnos okuženih rastlin v državo. Uradni status *P. ramorum* v Sloveniji: prehodni:dejavni, pod nadzorom.

5 LITERATURA

- Brasier C., Webber J. 2010. Sudden larch death. *Nature*, 466, 824-825
- EPPO-European and Mediterranean Plant Protection organisation. 2013. EPPO Alert List: *Phytophthora ramorum* (http://www.eppo.int/QUARANTINE/Alert_List/fungi/PHYTRA.htm) (20.03.2013)
- Webber J.F., Mullett M., Brasier C.M, 2010. Dieback and mortality of plantation Japanese larch (*Larix kaempferi*) associated with infection by *Phytophthora ramorum*. *New Disease Reports* 22, 19.

- Werres, S., Marwitz, R., Man in't Veld, W.A., De Cock, A.W.A.M., Bonants, P. J. M, De Weerd, M., Themann, K., Ilieva, E., Baayen, R.P. 2001. *Phytophthora ramorum* sp. nov., a new pathogen on *Rhododendron* and *Viburnum*, *Mycological Research*, 105, 1155-1165.
- Žerjav, M., Munda, A., Lane, C. R., Barnes, A. V., Huges, K. J. D. 2004. First report of *Phytophthora ramorum* on container-grown plants of *rhododendron* and *viburnum* in Slovenia. *Plant Pathology*, 53, 523.
2006. *Phytophthora ramorum*. *EPPO Bulletin*, 36, 145–155.

OGROŽENOST JESENOV ZARADI JESENOVEGA OŽIGA V SLOVENIJI

Tine HAUPTMAN¹, Dušan JURČ²

¹Gozdarski inštitut Slovenije, Ljubljana

IZVLEČEK

Jesenov ožig ogroža sestoje velikega jesena (*Fraxinus excelsior*) in poljskega jesena (*F. angustifolia*) v Sloveniji. Povzročiteljica bolezni, ki je pri nas znana od leta 2006, je tujerodna invazivna gliva *Chalara fraxinea* (teleomorf: *Hymenoscyphus pseudoalbidus*). Bolezen prizadene jesene vseh starosti, mortaliteta je pogosta med drevesi mlajših razvojnih faz, intenziteta bolezni pa je višja na rastiščih z visoko relativno zračno vlago in nižjimi temperaturami. Pri propadanju jesenov imajo poleg jesenovega ožiga zelo pomembno vlogo tudi glive iz rodu *Armillaria*, predvsem v zadnjem času pa dodatno škodo povzročajo tudi jesenov podlubniki. Ugotovili smo občutljivost glive *C. fraxinea* na povišane temperature, kar omogoča razvoj metode zdravljenja sadik s toplotno obdelavo v vroči vodi. Nekoliko toplejša klima v Sloveniji glivi najverjetneje ne ustreza tako kot klima v državah severnega dela Evrope, kjer že potekajo obsežne sečnje obolelih dreves. Kljub temu predvidevamo, da bo bolezen tudi pri nas močno zmanjšala populacijo jesenov. Odločilno vlogo za obstoj jesena v slovenskih gozdovih bo najverjetneje igrala individualna odpornost, ki jo kažejo posamezni osebki.

52

Ključne besede: jesenov ožig, *Chalara fraxinea*, mraznice, *Armillaria* spp., jesen, *Fraxinus* spp., Slovenija

ABSTRACT

ENDANGERMENT OF ASH SPECIES DUE TO ASH DIEBACK IN SLOVENIA

Common ash (*Fraxinus excelsior*) and Narrow-leaved ash (*F. angustifolia*) stands in Slovenia are endangered by ash dieback disease. Causal agent of the disease, which was in Slovenia for the first time found in 2006, is alien invasive fungus *Chalara fraxinea* (teleomorph: *Hymenoscyphus pseudoalbidus*). Ashes of all ages are diseased, mortality is common amongst saplings and young trees, and the severity of the disease seems to be higher on sites with high relative air humidity and lower temperatures. Apart from *C. fraxinea*, fungi from genus *Armillaria* play an important role as secondary pathogens in ash decline. Lately it has been observed that also ash bark beetles can cause some additional damage. Warmer climate in Slovenia is probably not as suitable for the disease development as climate of northern part of Europe, where large scale felling of diseased ash is in course. However, we assume that the disease will also in Slovenia significantly reduce ash population. Most probably the resistance to the disease shown by some individuals will play deceive role for existence of ash in Slovenian forests.

Key words: ash dieback, *Chalara fraxinea*, honey fungi, *Armillaria* spp., ash, *Fraxinus* spp., Slovenia

¹ univ. dipl. inž. gozd, Večna pot 2, SI-1000 Ljubljana

² prof. dr., prav tam

1 UVOD

Jesenov ožig je bolezen, ki jo povzroča gliva *Chalara fraxinea* Kowalski (2006). Omenjena gliva je bila v Evropo najverjetneje vnesena iz SV dela Azije (Zhao in sod., 2012), simptomi bolezni pa so se v Evropi prvič pojavili v sredini 90. let prejšnjega stoletja v Litvi in na Poljskem. Bolezen se zelo hitro razširila na večji del Evrope, pri širjenju pa pomembno vlogo igra teleomorf glive, imenovan *Hymenoscyphus pseudoalbidus* Queloz in sod. (2011). V Sloveniji smo prve simptome bolezni opazili jeseni leta 2006 v Prekmurju, v naslednjih dveh letih pa se je bolezen razširila na območje celotne države (Hauptman in sod., 2010; Ogris in sod., 2009). Gliva povzroča nekroze skorje, rakave rane in obarvanost lesa na poganjkih, vejah in deblih, kar vodi v sušenje listja in odmiranje krošnje. Patogen povzroča tudi nekroze listja in listnih pecljev, okuženo listje pa pogosto prezgodaj odpade. Ogrožena sta predvsem veliki jesen (*Fraxinus excelsior* L.) in ozkolistni jesen (*F. angustifolia* Vahl), medtem ko simptomov bolezni na malem jesenu (*F. ornus* L.) nismo odkrili.

2 POŠKODOVANOST JESENOVIH SESTOJEV V SLOVENIJI

Jesenov ožig spremljamo že od pojava prvih simptomov v letu 2006, prvi bolj sistematični pregled poškodovanosti jesenovih sestojev pa smo izvedli avgusta leta 2011 (Hauptman in sod., 2012). Takrat smo v devetih jesenovih semenskih objektih v Sloveniji postavili stalne raziskovalne ploskve in opravili prvi popis poškodovanosti. Na vsaki lokaciji smo postavili 5 stalnih ploskev in na vsaki ploskvi popisali šest najbližjih jesenovih dreves. Poleg ocene poškodovanosti zaradi glive *C. fraxinea* smo bili pri popisu pozorni tudi na simptome napada oziroma okuženosti z drugimi škodljivimi organizmi.

53

Povprečni delež odmrle krošnje v devetih različnih jesenovih sestojih je v letu 2011 tako znašal med 7 % in 39 % (na osmih lokacijah je bil manjši od 20 %), mortaliteta pa je bila le nekaj odstotna (Hauptman in sod., 2012). Ti rezultati kažejo, da so poškodbe gostiteljskih dreves, ki jih povzroča gliva *C. fraxinea* v Sloveniji primerljive s poškodbami zaradi jesenovega ožiga v Avstriji. Povprečna poškodovanost jesenovih krošenj na petnajstih raziskovalnih ploskvah v Spodnji Avstriji je namreč nihala med 2 % in 38 %, medtem ko je bil delež odmrlih jesenov manjši kot 5 % (Keßler in sod., 2012). Veliko večje škode pa je gliva *C. fraxinea* povzročila v državah, kjer se je bolezen najprej pojavila. Tako je bilo npr. v Litvi že leta 2009 za golosečno predvidenih 30 – 40 % jesenovih sestojev (Lygis in sod., 2009), površina jesenovih sestojev pa se je od leta 1995 pa do leta 2011 zmanjšala iz 50.800 na 36.300 hektarov (Bakys, 2013). Na podlagi prvega popisa poškodovanosti bi lahko sklepali, da zdravstveno stanje jesenovih sestojev v Sloveniji ni kritično, vendar je potrebno izpostaviti, da so bili popisi narejeni v relativno starih sestojih. Opazovanja pri nas kot tudi v tujini (Kirisits in sod., 2009) so namreč pokazala, da sta intenzivnost bolezni in mortaliteta v mlajših razvojnih fazah višji kot v starejših razvojnih fazah, torej lahko domnevamo, da bi popisi v mlajših sestojih verjetno pokazali višjo stopnjo poškodovanosti zaradi jesenovega ožiga.

Primerjava poškodovanosti jesenov različnih socialnih položajev je pokazala, da je povprečni delež odmrle krošnje nižjih socialnih položajev značilno večji od povprečnega deleža odmrle krošnje dreves, ki tvorijo streho sestoja (Hauptman in sod., 2012). Večina okužb se domnevno izvrši skozi listje gostitelja (Cleary in sod., 2013; Gross in sod., 2012; Kirisits in sod., 2009) in naši rezultati kažejo na to, da so razmere v krošnjah, ki so bolj izpostavljene soncu in vetru in s tem višjim temperaturam in nižji zračni vlagi, manj primerne za razvoj bolezni. Da imajo višje temperature negativni učinek na razvoj jesenovega ožiga, so pokazale tudi raziskave vpliva temperatur na glivo *C. fraxinea* (Hauptman in sod., 2013), ki smo jih opravili na

Gozdarskem inštitutu Slovenije. V omenjeni raziskavi smo okužena jesenova tkiva tretirali v vodi pri različnih temperaturah in nato z izolacijami gliv v čiste kulture preverjali preživetje glive *C. fraxinea* in preživetje jesenovih sadik. Rezultati so pokazali, da se uspešnost izolacije močno zmanjša že s pet urnim segrevanjem pri 36°C in 40°C, saj smo glivo uspeli izolirati le iz 15 % oziroma 2,5 % tretiranih tkiv (uspešnost izolacije iz netretiranih tkiv je bila približno 93 %). Gliva v okuženih tkivih deset urnih segrevanj pri temperaturah 36°C in 40°C ni preživela. Rezultati kažejo, da je mogoče razviti metodo zdravljenja okuženih sadik z namakanjem sadik v vroči vodi. V sklopu teh raziskav smo izvajali tudi meritve temperatur v in na sadikah velikega jesena (*F. excelsior*), ki so rasle na vrtu GIS v Ljubljani. V sadikah, ki so bile sicer precej izpostavljene soncu, so temperature v vročih poletnih dneh pogosto za več ur presegle 36°C, kar kaže na to, da tudi v naravi lahko temperature v okuženih tkivih dosežejo tako visoke vrednosti, da so za glivo usodne.

Pri popisu poškodovanosti v jesenovih sestojih smo opazili tudi velike razlike v poškodovanosti med jeseni podobne starosti in socialnega položaja, ki so rasli povsem skupaj oziroma na zelo podobnih rastiščih. Te ugotovitve kažejo na to, da so določeni osebki na bolezen bolj odporni. Individualno odpornost velikega jesena (*F. excelsior*) potrjujejo tudi rezultati raziskav, ki so bile narejene na Danskem (McKinney in sod., 2011; McKinney in sod., 2012), Švedskem (Stener, 2012) in v Avstriji (Kirisits in sod., 2012). Pomembno vlogo pri tem naj bi igrali mehanizmi, ki zavirajo rast glive *C. fraxinea* v tkivih gostitelja (McKinney in sod., 2012), za bolj odporne pa so se izkazali kloni v jesenovih semenskih plantažah, ki v jeseni prej sklenejo rast in prej odvržejo listje (McKinney in sod., 2011). Razlike v odpornosti med posameznimi jeseni pa smo raziskovali tudi pri nas v klonskem nasadu ozkolistnega jesena (*F. angustifolia*) v Hraščici. Preliminarni rezultati kažejo, da tudi pri tej vrsti jesena obstajajo velike razlike v poškodovanosti med posameznimi kloni, vendar pa omenjeni obrambni mehanizmi v Hraščici domnevno ne igrajo odločilne vloge za zdravstveno stanje ozkolistnih jesenov. Ugotovili pa smo, da imajo v procesu propadanja jesenov pomembno vlogo mraznice (*Armillaria* spp.), v zadnjem času pa dodatno škodo povzročajo tudi jesenovi podlubniki (Scolytidae).

Okužbe z mraznicami (*Armillaria* spp.) smo pogosto odkrili pri popisih poškodovanosti v jesenovih semenskih objektih. Kljub temu, da nismo sistematično pregledovali korenčnikov vseh popisanih dreves, smo značilne micelijske pahljače ali pa rizomorfe odkrili na 8,5 % dreves (Hauptman in sod., 2012). Zanimiv je predvsem podatek, da smo okužbe z mraznicami odkrili na vseh popisanih odmrlih drevesih. Ta skupina gliv sicer v procesu propadanja jesenov igra sekundarno vlogo (Bakys in sod., 2011; Lygis in sod., 2005; Skovsgaard in sod., 2010), vsekakor pa proces propadanja močno pospeši. Predvidevamo, da mraznice tudi v Sloveniji večinoma igrajo sekundarno vlogo. Ker pa smo v nekaj primerih odkrili jesene, ki niso kazali znakov okužbe z jesenovim ožigom, so pa bili močno okuženi z mraznicami, domnevamo, da so omenjene glive lahko tudi primarni vzrok propada jesena. V Evropi je razširjenih šest vrst iz rodu *Armillaria*, ki se med drugim razlikujejo tudi v patogenosti (Guillaumin in sod., 1993). V povezavi z jesenovim ožigom se omenjata predvsem glivi *Armillaria gallica* Marxm. & Romagn in *A. cepistipes* Velen. (Bakys *et al.*, 2011; Skovsgaard *et al.*, 2010), ki obe veljata za šibka oziroma sekundarna parazita (Guillaumin in sod., 1993). Na podlagi naših opazovanj lahko predvidevamo, da v Sloveniji jesene ogroža tudi bolj patogena vrsta *A. mellea* (Vahl) P. Kumm., vendar so za potrditev te domneve potrebne še dodatne raziskave.

Ko smo v Hraščici natančneje pregledovali korenčnike jesenovih dreves, smo poleg okužb z glivami iz rodu *Armillaria* pogosto odkrili nekroze lesa in skorje, ki niso kazali tipičnih znamenj okužb z mraznicami. Izolacije gliv v čiste kulture so pokazale, da je povzročiteljica teh nekroz pravzaprav gliva *C. fraxinea*. Ker v bližini teh nekroz ni bilo nobenih vej oziroma listja, je to dokaz, da listje ni edino mesto vstopa glive v gostitelja. Do podobnih ugotovitev

so prišli tudi raziskovalci v Franciji (Husson in sod., 2012), ki predvidevajo, da v tem primeru gliva v gostitelja vstopa prek lenticel na koreničniku in nadzemnih delih korenin. Visoka stopnja poškodovanosti koreničnikov z mraznicami in tudi z glivo *C. fraxinea*, kaže, da zgolj ocena poškodovanosti krošnje ni dovolj za ugotovitev dejanskega zdravstvenega stanja jesenov oziroma okuženosti z jesenovim ožigom.

Jesenovi podlubniki (Coleoptera: Scolytidae) do pred kratkim niso zbujali večje pozornosti, saj so se pojavljali precej redko, pa še to na povsem oslabljenih jesenih. Nekoliko povečan obseg škod zaradi delovanja teh škodljivih organizmov smo v letu 2012 opazili v Hraščici in tudi na nekaterih drugih lokacijah. V nekaj primerih napadena drevesa niso bila močneje oslabljena zaradi delovanja drugih škodljivih organizmov, kar kaže na to, da lahko ob namnožitvah tudi jesenovi podlubniki postanejo primarni škodljivi organizmi (Jurc, 2008).

3 SKLEP

Škoda zaradi jesenovega ožiga v Sloveniji je precej manjša od škode, ki jo ta bolezen povzroča v nekaterih državah severnega dela Evrope. Glavni razlog je v tem, da je bolezen tam dlje razširjena, glede na rezultate naših raziskav pa lahko domnevamo, da k temu nekoliko pripomore tudi toplejša klima v Sloveniji. Kljub temu lahko pričakujemo, da bo bolezen v Sloveniji številčno močno zmanjšala populacijo velikega jesena in ozkolistnega jesena. Bistvena za obstoj obeh vrst v slovenskih gozdovih bo odpornost, ki jo kažejo določeni osebki. K obstoju jesenov lahko pripomoremo s pomočjo usmerjenega kržanja ter s premišljenim gospodarjenjem. Potrebno je spremljati razvoj bolezni v jesenovih sestojih, pospeševati in negovati odporne osebke, pozorni pa moramo biti tudi na druge škodljive organizme, ki sodelujejo v procesu propadanja jesenov in lahko ob neprimernem ukrepanju ogrozijo tudi tiste osebke, ki so na jesenov ožig odporni.

4 ZAHVALA

Delo je potekalo v okviru projekta L4-2301 Jesenov ožig v Sloveniji in proučevanje glive *Chalara fraxinea*, ki sta ga financirali Agencija za raziskovalno delavnost Republike Slovenije in Ministrstvo za kmetijstvo in okolje ter Programske skupine P4 0107 Gozdna biologija, ekologija in tehnologija, ki jo financira Agencija za raziskovalno delavnost Republike Slovenije.

5 LITERATURA

- Bakys, R. 2013. Dieback of *Fraxinus excelsior* in the Baltic Sea Region: associated fungi, their pathogenicity and implications for silviculture. Uppsala, Dept. of Forest Mycology and Plant Pathology, Swedish University of Agricultural Sciences: 48 str.
- Bakys, R., Vasiliauskas, A., Ihmark, K., Stenlid, J., Menkis, A., Vasaitis, R. 2011. Root rot, associated fungi and their impact on health condition of declining *Fraxinus excelsior* stands in Lithuania. Scandinavian Journal of Forest Research, 26: 128-135.
- Cleary, M.R., Daniel, G., Stenlid, J. 2013. Light and scanning electron microscopy studies of the early infection stages of *Hymenoscyphus pseudoalbidus* on *Fraxinus excelsior*. Plant Pathology, v tisku.
- Gross, A., Zaffarano, P.L., Duo, A., Grünig, C.R. 2012. Reproductive mode and life cycle of the ash dieback pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus*. Fungal Genetics and Biology, 49: 977-986.
- Guillaumin, J.J., Mohammed, C., Anselmi, N., Courtecuisse, R., Gregory, S.C., Holdenrieder, O., Intini, M., Lung, B., Marxmüller, H., Morrison, D., Rishbeth, J., Termorshuizen, A.J., Tirro, A., Van Dam, B. 1993. Geographical distribution and ecology of the *Armillaria* species in western Europe. European Journal of Forest Pathology, 23: 321-341.
- Hauptman, T., Ogris, N., Jurc, D. 2010. Kaj se dogaja z jesenom pri nas? - Tretje nadaljevanje. Gozdarski vestnik, 68: 71-73.
- Hauptman, T., Piškur, B., de Groot, M., Ogris, N., Ferlan, M., Jurc, D. 2013. Temperature effect on *Chalara fraxinea*: heat treatment of saplings as a possible disease control method. Forest Pathology, v tisku.

- Hauptman, T., Skudnik, M., Jurc, D. 2012. Jesenov ožig v Sloveniji: poškodovanost jesenov v jesenovih semenskih objektih. *Les*, 64: 129-135.
- Husson, C., Caël, O., Grandjean, J.P., Nageleisen, L.M., Marçais, B. 2012. Occurrence of *Hymenoscyphus pseudoalbidus* on infected ash logs. *Plant Pathology*, 61: 889-895.
- Jurc, M. 2008. Gozdna zoologija, univerzitetni učbenik. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire: 348 str.
- Keßler, M., Cech, T.L., Brandstetter, M., Kirisits, T. 2012. Dieback of ash (*Fraxinus excelsior* and *Fraxinus angustifolia*) in Eastern Austria: Disease development on monitoring plots from 2007 to 2010. *Journal of Agricultural Extension and Rural Development*, 4: 223-226.
- Kirisits, T., Krietsch, P., Kraüter, K., Matlakova, M., Halmschlager, E. 2012. Ash dieback associated with *Hymenoscyphus pseudoalbidus* in forest nurseries in Austria. *Journal of Agricultural Extension and Rural Development*, 4: 230-235.
- Kirisits, T., Matlakova, M., Mottinger-Kroupa, S., Cech, T.L., Halmschlager, E. 2009. The current situation of ash dieback caused by *Chalara fraxinea* in Austria. *SDU Faculty of Forestry Journal*: 97-119.
- Kowalski, T. 2006. *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. *Forest Pathology*, 36: 264-270.
- Lygis, V., Bakys, R., Vasaitis, R. 2009. Ash decline in Lithuania: the current situation and research. V: SNS Workshop, Network of Climate Change Risk on Forests, Tvärminne, Finland: 23-23.
- Lygis, V., Vasiliauskas, R., Larsson, K.H., Stenlid, J. 2005. Wood-inhabiting fungi in stems of *Fraxinus excelsior* in declining ash stands of northern Lithuania, with particular reference to *Armillaria cepistipes*. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 20: 337-346.
- McKinney, L.V., Nielsen, L.R., Hansen, J.K., Kjaer, E.D. 2011. Presence of natural genetic resistance in *Fraxinus excelsior* (Oleraceae) to *Chalara fraxinea* (Ascomycota): an emerging infectious disease. *Heredity*, 106: 788-797.
- McKinney, L.V., Thomsen, I.M., Kjær, E.D., Nielsen, L.R. 2012. Genetic resistance to *Hymenoscyphus pseudoalbidus* limits fungal growth and symptom occurrence in *Fraxinus excelsior*. *Forest Pathology*, 42: 69-74.
- Ogris, N., Hauptman, T., Jurc, D. 2009. *Chalara fraxinea* causing common ash dieback newly reported in Slovenia. *Plant Pathology*, 58: 1173-1173.
- Queloz, V., Grunig, C.R., Berndt, R., Kowalski, T., Sieber, T.N., Holdenrieder, O. 2011. Cryptic speciation in *Hymenoscyphus albidus*. *Forest Pathology*, 41: 133-142.
- Skovsgaard, J.P., Thomsen, I.M., Skovsgaard, I.M., Martinussen, T. 2010. Associations among symptoms of dieback in even-aged stands of ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Forest Pathology*, 40: 7-18.
- Stener, L.G. 2012. Clonal differences in susceptibility to the dieback of *Fraxinus excelsior* in southern Sweden. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 28, 3: 205-216.
- Zhao, Y.J., Hosoya, T., Baral, H.O., Hosaka, K., Kakishima, M. 2012. *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, the correct name for *Lambertella albida* reported from Japan. *Mycotaxon*, 122: 25-41.

BOLEZNI BOROVIH IGLIC V SLOVENIJI, KI JIH POVZROČAJO GLIVE IZ RODU *Mycosphaerella*

Barbara PIŠKUR¹, Tine HAUPTMAN², Nikica OGRIS³, Dušan JURČ⁴

Gozdarski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo gozdov, Ljubljana

IZVLEČEK

Bore (*Pinus* spp.) pri nas pogosto poškodujejo številne avtohtone bolezni in škodljivci, posebno velika nevarnost pa jim grozi zaradi vnosa tujerodnih škodljivih organizmov. Predvidena škoda ob vnosu le-teh bo seštevek neposrednih škod zaradi poškodb in rigoroznih ukrepov za njihovo zatiranje ali preprečevanje širjenja, ki lahko dodatno izjemno negativno vplivajo na gozd. Določeni škodljivi organizmi so že prepoznani in uvrščeni na sezname Direktive Sveta št. 2000/29/ES in Evropske in mediteranske organizacije za varstvo rastlin (EPPO). Med njimi najdemo tudi dve bolezni: rjavenje borovih iglic, ki ga povzroča gliva *Mycosphaerella dearnessii* (anamorf *Lecanosticta acicola*) in rdečo pegavost borovih iglic, ki jo povzročata morfološko podobni vrsti *Dothistroma septosporum* (teleomorf *M. pini*) in *D. pini* (teleomorf ni znan). Povzročiteljici rdeče pegavosti borovih iglic so identificirali šele leta 2004 in ločiti ju je mogoče le s primerjavo molekularnih podatkov. Vse tri vrste gliv niso splošno razširjene v Evropi. V zadnjem času sta se povečali obseg razširjenosti in intenziteta bolezni zaradi vrst iz rodu *Dothistroma*, predvsem v Angliji in severnih državah. Novejše genetske analize kažejo, da je za nadaljnji razvoj bolezni pomembno, ali bo v evropski prostor vnesen do sedaj neodkrit paritveni tip *D. pini*, kar bi povzročilo večjo genetsko variabilnost in večjo možnost nastanka bolj patogenih oblik te glive. V letu 2012 smo zato v okviru posebnega nadzora spremljali zastopanost in vrstno sestavo gliv iz rodu *Dothistroma* in glive *M. dearnessii* v Sloveniji. Rezultati se ujemajo z izsledki podobnih raziskav v Evropi in dopolnjujejo poznavanje razširjenosti glive *D. pini*. Poleg tega so rezultati nakazali, da je spremljanje škodljivih organizmov pomembna osnova za ukrepanje ob najdbi bolezni oziroma pri njenem zatiranju.

Ključne besede: bolezni iglic, bori, *Dothistroma*, gozdovi

ABSTRACT

PINE NEEDLE DISEASES IN SLOVENIA, CAUSED BY FUNGI FROM THE *Mycosphaerella* GENUS

In Slovenia, pines (*Pinus* spp.) are frequently damaged by numerous autochthonous diseases and pests, but introductions of alien harmful organisms represent even higher dangers for pine trees. Estimated loss as a consequence of these introductions will be a sum of direct losses connected to the disease or damages and losses connected to rigorous measures taken to eradicate or to prevent the disease expansion, which could additionally negatively affect our forests. Some of these harmful organisms are already recognized and listed on the lists of the Council Directive 2000/29/EC and of the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). Among them the following two

¹ dr., Večna pot 2, SI-1000 Ljubljana

² univ. dipl. inž. gozd., prav tam

³ dr., prav tam

⁴ prof. dr., prav tam

diseases are found: brown spot needle blight caused by *Mycosphaerella dearnessii* (anamorph *Lecanosticta acicola*) and red band needle blight caused by two morphologically similar species *Dothistroma septosporum* (teleomorph *M. pini*) and *D. pini* (teleomorph unknown). The latter two species were identified in 2004 and can only be identified based on molecular data. All three mentioned species are not widely spread in Europe. But in the recent years the extent and the intensity of the disease, caused by *Dothistroma* species have increased, especially in England and Nordic countries. Latest genetic analyses have shown that for further disease development in Europe import of a not yet present mating type would be critical. This would trigger a higher genetic variability and the possibility of new pathogenic strains would be enhanced. Subsequently, a monitoring of the presence and diversity of *Dothistroma* fungi and *M. dearnessii* has been performed in 2012 in Slovenia in the context of the National survey program. The results of this survey are in accordance of the similar surveys performed in Europe and supplement the existing knowledge about the *D. pini* distribution. Also, the results indicate the value of regular monitoring, which could serve as an important basis for possible actions at disease outbreaks or to limit the disease spread.

Key words: needle diseases, pines, *Dothistroma*, forests

1 UVOD

Rjavenje borovih iglic (ang. brown spot needle blight) povzroča gliva *Mycosphaerella dearnessii* M. E. Barr (anamorf *Lecanosticta acicola* [Thümen] H. Sydow). Bolezen najverjetneje izvira iz Severne Amerike, je pa bila odkrita na posameznih lokacijah v Evropi (EPPO, 2008, 2013). V Sloveniji je bila najdena v letih 2008 in 2009 v Ljubljani in na Bledu na rušju (*Pinus mugo* Turra) in rdečem boru (*Pinus sylvestris* L.) (Jurc in Jurc, 2010); okužena drevesa so bila uničena in trenutni uradni status bolezni v Sloveniji je prehodni in pod nadzorom (EPPO, 2013).

Rdečo pegavost borovih iglic (ang. red band needle blight / *Dothistroma* needle blight) povzročata dve morfološko podobni glivi *Dothistroma septosporum* (Dorog.) Morelet (teleomorf *Mycosphaerella pini* Rostr.) in *D. pini* Hulbary (teleomorf ni znan), ki ju lahko ločimo le na osnovi molekularnih podatkov. Vrsti sta bili do leta 2004 obravnavani kot ena vrsta (Barnes in sod., 2004). Taksonomska zgodovina omenjene vrste je zapletena. Če povzamemo, je bila anamorfna oblika glive v Ameriki poimenovana *D. pini*, v Evropi pa *Cytosporina septosporum* Dorog. (Doroguine, 1911; Barnes in sod., 2004). Šele leta 1968 sta Gremmen (1968) in Morelet (1968) ugotovila, da sta glivi *C. septosporum* in *D. pini* morfološko identični in posledično je bila vrsta preimenovana v *D. septosporum*. Leta 2004 so Barnes in sod. (2004) na osnovi primerjav več genskih regij ugotovili, da je omenjena vrsta pravzaprav kompleks dveh kriptičnih vrst: *D. pini* in *D. septosporum*. Vrsta *D. septosporum* je splošno razširjena, vrsto *D. pini* pa so do sedaj ugotovili le na posameznih lokacijah v Severni Ameriki, Madžarski, Franciji, Ukrajini in Rusiji (Barnes in sod., 2011). V zadnjem času sta se povečali obseg razširjenosti in intenzivnosti bolezni zaradi vrst iz rodu *Dothistroma*, predvsem v Angliji in severnih evropskih državah (Barnes in sod., 2011). Novejše genetske analize kažejo, da je za nadaljnji razvoj bolezni pomembno, ali bo v evropski prostor vnesen do sedaj neodkrit paritveni tip *D. pini*, kar bi povzročilo večjo genetsko variabilnost in večjo možnost nastanka bolj patogenih oblik te glive (Barnes in sod., 2011). V Sloveniji je bila prva uradna zabeležka rdeče pegavosti borovih iglic leta 1971 (Maček, 1975), in sicer na črnem boru v okolici Ljubljane in Škofje Loke. V zadnjih letih tudi v Sloveniji opažamo posamične močno okužene sestoje z rdečo pegavostjo borovih iglic (Jurc, 2007).

V prispevku bomo predstavili ključne ugotovitve spremljanja prisotnosti gliv *M. dearnessii* in *D. pini* ter *D. septosporum* v Sloveniji v letu 2012, ko je potekal Posebni nadzor za glivi

Mycosphaerella dearnessii in *Mycosphaerella pini*. Vključeni so tudi podatki spremljanja iz prejšnjih let ter podatki o paritvenih tipih.

2 MATERIALI IN METODE

Posebni nadzor za glive *M. dearnessii* in *D. septosporum* ter *D. pini* je potekal na celotnem ozemlju Republike Slovenije v letu 2012. Predmet pregleda so bile vse znane gostiteljske rastline za omenjene vrste gliv (črni bor, rdeči bor, rušje, ostale vrste borov ter duglazija, evropski macesen in navadna smreka). Pozornost smo namenjali predvsem vsem vrstam borov, kjer je bil opazen osip iglic in rjavo ali rdeče obarvanje iglic ter temno rdeči trakovi, ki so obdajali iglice ter vsem gostiteljskim rastlinam s povečano stopnjo osutosti krošnje. Po odvzemu vzorcev smo zaradi možnosti prenosa boleznih z delovnim orodjem izvajali dezinfekcijo uporabljenega orodja.

Laboratorijske analize vzorcev so bile izvedene po metodah Laboratorija za varstvo gozdov Gozdarskega inštituta Slovenije LVG SOP/SCIRPI in LVG SOP/SCIRAC. Omenjeni standardni postopki so pripravljani po priporočilih EPPO (diagnostični protokol PM7/46 (2)) ter po novejših diagnostičnih protokolih, ki vključujejo reakcije PCR s specifičnimi začetnimi oligonukleotidi za glivi *D. pini* in *D. septosporum* (Ioos in sod., 2010) in ki jih lahko izvajamo tudi na ekstraktih DNA, pridobljenih direktno iz okužene iglice.

Pri vzorcih, kjer je bila ugotovljena gliva *D. septosporum* ali *D. pini* smo ugotavljali paritveni tip, in sicer po metodologiji, ki so jo razvili Groenewald in sod. (2007).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

59

V letu 2012 je bilo za namen posebnega nadzora za glivi *Mycosphaerella dearnessii* in *Mycosphaerella pini* v Laboratoriju za varstvo gozdov GIS pregledanih devet vzorcev s sumom na glivo, ki so bile predmet nadzora. Za omenjene glive je značilna počasna rast, kar otežuje izolacije v čiste kulture. Pogoste so tudi hkratne okužbe z drugimi glivami, ki lahko prikrijejo okužbe z glivami *M. dearnessii* oziroma *D. pini* in *D. septosporum*. Zato je za diagnostiko vzorcev s sumom na omenjene glive pomembna implementacija novejših molekularnih diagnostičnih postopkov (Ioos in sod., 2010). Pri večini vzorcev smo izolirali DNA direktno iz okuženih iglic ter izvedli postopek izolacij v čiste kulture. Te smo uspešno pridobili le iz treh lokacij, ki so bile predmet nadzora v letu 2012. V analize smo vključili tudi dva čista izolata, ki sta bila pridobljena v okviru terenskih pregledov JGS-PPD (GIS) v Panovcu in Ljubljani. Na osnovi nukleotidnih zaporedij treh genskih regij (ITS rDNA, EF- α , BT2) in primerjav z bazo zaporedij GenBank smo identificirali pridobljene čiste izolate do vrstnega nivoja: izolati iz Panovca, Pivke in Radencev – *D. pini*, izolata iz Ljubljane in Volčjega Potoka – *D. septosporum* (Piškur in sod., oddano). Zanimiva je primerjava z rezultati molekularnih analiz z DNA, izolirano direktno iz okuženih iglic. Uporaba vrstno specifičnih oligonukleotidov je namreč razkrila, da lahko na isti lokaciji in celo v isti iglici najdemo obe vrsti, torej *D. pini* in *D. septosporum* (Piškur in sod., oddano). Tako je bila npr. na lokaciji Pivka okužba z obema vrstama *Dothistroma*, vendar bi, če bi sklepali le na osnovi pridobljenega čistega izolata, imeli lažno negativni rezultat za pojav *D. septosporum*. Ravno tako bi sklepanje le na osnovi uspešnosti pridobljenih čistih kultur privedlo do lažno negativnih rezultatov na ostalih lokacijah, kjer je potekalo vzorčenje. Če povzamemo, vrste *M. dearnessii* v letih 2011 in 2012 nismo potrdili. Vrsti *D. pini* in *D. septosporum* sta bili na območju Slovenije najdeni v gozdnih drevesnicah, parkih, javnih površinah, vrtovih in gozdnih sestojih. V prizadetih borovih sestojih smo potrdili obe vrsti kompleksa *Dothistroma*. V primeru pozitivnih najdb vrst *Dothistroma* v drevesnicah smo priporočili uničenje (sežig) okuženih dreves. V primeru najdb na javnih površinah, vrtovih oziroma v gozdu v skladu s

sprejetim programom posebnega nadzora ukrepov nismo priporočili. V primeru najdb v gozdu smo predlagali ustrezne gojitvene ukrepe.

Raziskave evropskih izolatov glive *D. septosporum* (teleomorf je *M. pini*) so pokazale visoko genetsko variabilnost, vzrok pripisujejo večkratnim vnosom gliv na območje Evrope in razširjanju glive kot posledici aktivnosti ljudi (npr. Tomšovský in sod., 2012; Groenewald in sod., 2007). Del variabilnosti najverjetneje izhaja tudi iz spolnega razmnoževanja glive, čeprav je najdba teleomorfa in askospor na območju Evrope omejena (Tomšovský in sod., 2012). Za vrsto *D. pini* do sedaj še niso potrdili obeh paritvenih tipov na območju Evrope (Barnes in sod., 2011). Analize vzorcev, pridobljenih v posebnem nadzoru v letu 2012 iz območja Slovenije ter vzorcev iz leta 2011, so pokazale, da sta v Sloveniji oba paritvena tipa glive *D. septosporum* in en paritveni tip vrste *D. pini*, kar je podobno situaciji v drugih evropskih državah, kjer so zasledili vrsto *D. pini* (Piškur in sod., oddano).

Populacija z visoko genetsko variabilnostjo ima močan evlucijski potencial in se lahko hitro prilagaja na nove razmere ter lahko predstavlja veliko nevarnost za razvoj novih patogenih oblik glive. Zato je v svetu in Evropi poudarek na omejevanju vnosa novih genotipov na nova območja in na uvedbi fitosanitarnih ukrepov za preprečitev razširjanja (Groenewald in sod., 2007). Za nadaljnji razvoj bolezni bo najverjetneje pomembno, ali bo v evropski prostor vnesen do sedaj neodkrit paritveni tip glive *D. pini*, kar bi povzročilo večjo genetsko variabilnost in večjo možnost nastanka bolj patogenih oblik te glive (Barnes in sod., 2011).

4 SKLEPI

60

Na različnih lokacijah v Sloveniji smo na osnovi odvzetih vzorcev potrdili kompleks vrst iz rodu *Dothistroma*. Vrste *M. dearnassii* v letih 2011 in 2012 nismo zasledili. Na osnovi molekularnih informacij smo potrdili vrsti *D. septosporum* in *D. pini* na območju Slovenije. Določitev vrste *D. pini* je prvo poročilo o omenjeni vrsti v Sloveniji in je tretja najdba v Evropi (po Madžarski in Franciji). Rezultati posebnega nadzora se ujemajo z rezultati podobnih spremljanj v Evropi, ki nakazujejo hkratno zastopanost obeh vrst, ne le na istem gostitelju pač pa tudi v isti iglici. Ravno tako lahko na osnovi pregledanih vzorcev sklepamo, da so v Sloveniji isti paritveni tipi vrst *D. pini* in *D. septosporum* kot drugje v Evropi. Rezultati dopolnjujejo poznavanje razširjenosti glive *D. pini* v Evropi ter nakazujejo, da je spremljanje škodljivih organizmov pomembna osnova za ukrepanje ob najdbi bolezni oziroma pri sprejemanju smernic za njeno zatiranje.

5 Zahvala

Prispevek je nastal v okviru programske skupine Gozdna biologija, ekologija in tehnologija (P4-0107). Za financiranje spremljanja stanja okuženosti borov v Sloveniji se zahvaljujemo Fitosanitarni upravi RS, MKO in Direktoratu za gozdarstvo, lovstvo in ribištvo, MKO. Za sodelovanje pri posebnem nadzoru se zahvaljujemo Zavodu za gozdove Slovenije ter Fitosanitarni in gozdarski inšpekciji.

6 Literatura

- Barnes, I., Crous, P.W., Wingfield, B.D., Wingfield, M.J. 2004. Multigene phylogenies reveal that red band needle blight of *Pinus* is caused by two distinct species of *Dothistroma*, *D. septosporum* and *D. pini*. *Studies in Mycology*, 50: 551-565.
- Barnes, I., Kirisits, T., Wingfield, M.J., Wingfield, B.D. 2011. Needle blight of pine caused by two species of *Dothistroma* in Hungary. *Forest Pathology*, 41, 5: 361-369
- Doroguine, G. 1911. Une maladie cryptogamique du Pin. *Bulletin Trimestriel de la Société Mycologique de France*, 27: 105-106.
- EPPO. 2008. *Mycosphaerella dearnessii* and *Mycosphaerella pini*. EPPO Bulletin, 38: 349-362.
- EPPO. 2013. PQR-EPPO database on quarantine pests (available online). www.eppo.int

- Gremmen, J. 1968. The presence of *Scirrhia pini* Funk et Parker in Romania (Conidial stage: *Dothistroma pini* Hulb.). Bulletin Trimestriel de la Société Mycologique de France, 84: 489-492.
- Groenewald, M., Barnes, I., Bradshaw, R.E., Brown, A.V., Dale, A., Groenewald, J.Z., Lewis, K.J., Wingfield, B.D., Wingfield, M.J., Crous, P.W. 2007. Characterization and distribution of mating type genes in the *Dothistroma* needle blight pathogens. Phytopathology, 97, 7: 825-834.
- Jurc, D. 2007. Bori - *Pinus* spp.: boleznj iglic: *Lophodermium seditiosum*, *Mycosphaerella pini*, *Mycosphaerella dearnessii*, *Cyclaneusma minus* (Pines - *Pinus* spp.: diseases of needles). Gozdarski Vestnik, 65: 209-224.
- Jurc, D., Jurc, M. 2010. *Mycosphaerella dearnessii* occurs in Slovenia. Plant Pathology, 59: 808-808.
- Maček, J. 1975. *Scirrhia pini* Funk et Park., povzročitelj nove bolezni bora v Sloveniji (*Scirrhia pini* Funk et Park., the cause of the new disease of pine in Slovenia). Gozdarski vestnik, 33: 9-11.
- Morelet, M. 1968. De aliquibus in Mycologia novitatibus. Bulletin de la Société des Sciences Naturelles et d'Archéologie de Toulon et du Var, 177: 9.
- Piškur, B., Hauptman, T., Jurc, D. *Dothistroma* Needle Blight in Slovenia is caused by two cryptic species: *Dothistroma pini* and *Dothistroma septosporum*. (Oddano 2012).
- Tomšovský, M., Tomešová, V., Palovčíková, D., Kostovčík, M., Rohrer, M., Hanáček, P., Jankovský, L. 2013. The gene flow and mode of reproduction of *Dothistroma septosporum* in the Czech Republic. Plant Pathology, 62: 59–68.

KRATKOROČNA PROGNOZA POJAVA POOGLENITVE BUKVE (*Biscogniauxia nummularia*) V SLOVENIJI

Nikica OGRIS¹

Gozdarski inštitut Slovenije, Ljubljana

IZVLEČEK

Pooglenitev bukve povzroča gliva *Biscogniauxia nummularia*, ki je v običajnih razmerah neškodljiv endofit skorje navadne bukve, ob višji temperaturi in sušnem stresu pa postane parazit. *B. nummularia* je povzročila odmiranje navadne bukve na večjih površinah na območju Lendave, Brkinov in Reštanja po ekstremno vročem in sušnem letu 2003. Podobne razmere so bile v letu 2012. Zato v letu 2013 pričakujemo povišano stopnjo intenzivnosti poškodb zaradi pooglenitve bukve. Cilj raziskave je bil izdelati kratkoročno napoved potencialnega pojava poškodb zaradi *B. nummularia* na navadni bukvi v Sloveniji za leto 2013. Kratkoročno napoved pojava pooglenitve bukve za leto 2013 smo izvedli na podlagi modela, ki upošteva korelacijo pojavljanja pooglenitve bukve in klimatskih parametrov, tj. temperature in padavin. Rezultati modela so pokazali, da bo verjetnost pojava *B. nummularia* največja v jugozahodnem, osrednjem, severovzhodnem in jugovzhodnem delu Slovenije. Razpravljamo o prednostih in pomanjkljivostih modela ter možnostih za njegovo izboljšavo.

62

Ključne besede: *Biscogniauxia nummularia*, *Fagus sylvatica*, kratkoročna napoved, model, poškodba

ABSTRACT

SHORT-TERM FORECAST FOR OCCURRENCE OF STRIP-CANKERING OF BEECH (*Biscogniauxia nummularia*) IN SLOVENIA

Strip-cankering of beech is caused by *Biscogniauxia nummularia* that in normal conditions acts as endophyte of beech bark; the parasitic phase is initiated by higher temperatures and drought stress. Records of *B. nummularia* in Slovenia comes from Lendava, Brkini and Reštanj, which are related to unusually hot and dry weather in 2003. Similar weather conditions were in year 2012. Therefore, we expect higher intensity of damages caused by strip-cankering of beech in year 2013. Goal of this study was to perform short-term forecast for occurrence of strip-cankering of beech in 2013 with a model that considers correlation of strip-cankering with weather conditions, i.e. temperature and precipitations. The results of model showed that the highest probability for *B. nummularia* occurrence is in southwest, central, northeast and southeast part of Slovenia. We discuss about benefits - deficiencies of the model and possibilities for its improvement.

Keywords: *Biscogniauxia nummularia*, damage, *Fagus sylvatica*, model, short-term forecast

1 UVOD

Pooglenitev bukve je bolezen navadne bukve (*Fagus sylvatica* L.), ki jo povzroča novčičasta biskonjoja, *Biscogniauxia nummularia* (Bull.) Kuntze (Fungi: Ascomycota:

¹ dr., Večna pot 2, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: nikica.ogris@gozdis.si

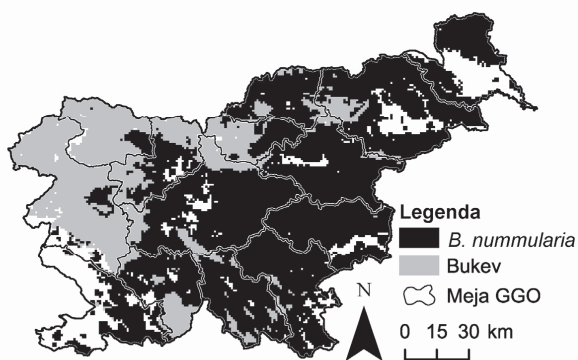
Sordariomycetes: Xylariales). *B. nummularia* je v navadnih razmerah neškodljiv endofit skorje, postane pa parazit, ko se pojavijo ustrezni pogoji: 2–3 °C višje povprečne mesečne temperature in daljša sušna obdobja (vsaj 6 mesecev manj kot 50 % padavin v primerjavi s 30 letnim povprečjem) ali pa samo višje temperature 4–5 °C (lahko je dovolj padavin) (Hendry in sod., 1998). Novčičasta biskonjoja po sušnem stresu povzroči odmiranje predelov skorje v obliki klinov ali pasov kjerkoli na deblu. Odmrli deli skorje se kasneje luščijo in odpadajo. Trosnjaki *B. nummularia* se razvijajo na skorji, ki je odmrla v prejšnjem letu. Mladi trosnjaki so prekriti z opnatim odpadljivim slojem, ko ta odpade, se sprosti črna površina strome v obliki krogov (novčičev) velikosti 5–20 mm. Če je odmrl velik pas skorje, ki ga kalus ne more dovolj hitro zarasti, v drevo prodrejo glive, ki povzročajo trohnobo in zato hitro zgubi tehnično vrednost. Če poškodba obsega večji del obsega debla, se drevo lahko posuši (Ogris, 2010).

V Sloveniji imamo zabeležene vsaj tri dogodke, kjer je *B. nummularia* povzročila odmiranje navadne bukke na večjih površinah: v Prekmurju v bližini Lendave po letu 2003 (Jurc, 2007), na Primorskem na Brkinih po letu 2003 (Jurc in sod., 2007), na območju Bohorja po letu 2005 (Ogris in Jurc, 2008).

Endofitni način življenja *B. nummularia* omogoča hiter razvoj in izrazito patogenost za navadno bukev v sušnem ali drugem stresnem okolju (Granata in Sidoti, 2004; Nugent in sod., 2005). Gliva *B. nummularia* se hitreje razvija v drevesu ob višjih temperaturah, tj. 25–30 °C in nad 30 °C, kjer zlahka tekmuje z drugimi glivami (Hendry in sod., 2002), kar jo naredi nevarnejšo v kontekstu podnebnih sprememb (Lonsdale in Gibbs, 1996; La Porta in sod., 2008).

Ogris in sod. (2008) so modelirali potencialni pojav novčičaste biskonjoje za tri scenarije podnebnih sprememb. Po optimističnem scenariju v obdobju 2071–2100 se bo *B. nummularia* verjetno pojavljala na okoli 10 % površine gozdov, kjer raste navadna bukev. Po pesimističnem scenariju podnebnih sprememb v obdobju 2071–2100 bo verjetno poškodovanih že 64 % površin bukovih gozdov zaradi *B. nummularia* (slika 1): ves vzhodni in srednji predel, nedotaknjeno ostane le Pohorje, Snežnik ter skrajno severni in zahodni predeli Slovenije. Rezultati modela so pokazali, da bi lahko bila gliva *B. nummularia* ena od možnih škodljivih biotskih dejavnikov, ki bi lahko vplivali na potencialno razširjenost navadne bukke pri nas.

63



Slika 1: Potencialna razširjenost pooglenitve bukke (*B. nummularia*) v Sloveniji po pesimističnem scenariju podnebnih sprememb v obdobju 2071–2100 (Ogris in sod., 2008)

Figure 1: Potential distribution of strip-cankering of beech (*B. nummularia*) in Slovenia according to pessimistic scenario of climate change in the period 2071–2100 (Ogris in sod., 2008)

Slovenijo je v letu 2012 prizadela huda poletna suša, ki se lahko primerja s sušo v letu 2003. Vroče in suho vreme se je začelo v mesecu juniju in se je nadaljevalo v julij in avgust (Cegnar, 2012b, 2012a; Cegnar in Gorup, 2012). Zato v letu 2013 pričakujemo povišano stopnjo intenzivnosti poškodb zaradi pooglenitve bukve. Cilj raziskave je bil izdelati kratkoročno napoved potencialnega pojava poškodb zaradi *B. nummularia* na navadni bukvi v Sloveniji v letu 2013.

2 METODE DELA

Kratkoročno napoved pojava pooglenitve bukve za leto 2013 smo izvedli na podlagi modela, ki upošteva korelacijo pojavljanja pooglenitve bukve in klimatskih parametrov (Hendry in sod., 1998). Model je bil zgrajen iz naslednjih dveh pravil:

- pooglenitev bukve se potencialno pojavi, ko so povprečne mesečne temperature višje za 2 °C ali več in ob daljših sušnih obdobjih, tj. vsaj v 4 mesecih pade manj kot 50 % padavin v primerjavi s 30 letnim povprečjem;
- pooglenitev bukve se potencialno pojavi, ko so povprečne mesečne temperature višje za 3 °C ali več v primerjavi s 30 letnim povprečjem, kjer količina padavin ni upoštevana.

Preglednica 1: Primerjava povprečne temperature in količine padavin za obdobje od januarja do septembra za izbrane meteorološke in klimatološke postaje med obdobjem 1971–2000 in letom 2012

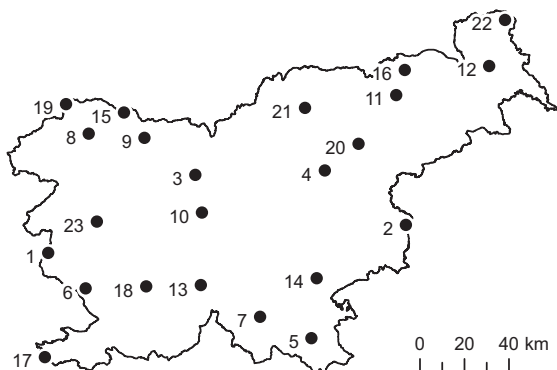
Table 1: Comparison of average temperature and precipitation amount for the period from January to September for chosen meteorological and climatological stations between the period 1971–2000 and year of 2012

Št.	Postaja	Obdobje 1971–2000		Leto 2012		Primerjava	
		T (°C)	P (mm)	T (°C)	P (mm)	ΔT (°C)	P (%)
1	Bilje	13,4	1006	14,8	680	1,4	68
2	Bizeljsko	11,7	761	13,2	660	1,5	87
3	Brnik - letališče	9,8	962	11,7	748	1,9	78
4	Celje - Medlog	11,2	836	12,2	719	1,0	86
5	Črnomelj - Dobljče	12,0	887	12,9	871	0,9	98
6	Godnje	12,2	965	13,9	600	1,7	62
7	Kočevje	9,5	1040	10,8	888	1,3	85
8	Kredarica	-0,7	1468	0,2	1454	0,9	99
9	Lesce	9,8	1042	11,3	918	1,5	88
10	Ljubljana - Bežigrad	11,8	981	13,7	863	1,9	88
11	Maribor - Tabor	11,7	776	13,4	567	1,7	73
12	Murska Sobota - Rakičan	11,3	616	12,9	564	1,6	92
13	Nova vas na Blokah	8,5	1059	10,0	887	1,5	84
14	Novo mesto	11,5	841	13,1	755	1,6	90
15	Planina pod Golico	7,7	1235	8,8	1199	1,1	97
16	Polički vrh	10,6	750	12,1	743	1,5	99
17	Portorož - letališče	14,0	644	15,2	383	1,2	59
18	Postojna	9,9	1090	11,6	638	1,7	59
19	Rateče	7,6	1060	8,9	1156	1,3	109
20	Slovenske Konjice	11,3	803	12,9	587	1,6	73
21	Šmartno pri Slovenj Gradcu	9,7	860	11,0	888	1,3	103
22	Veliki Dolenci	11,2	574	13,0	435	1,8	76
23	Vojsko	7,6	1555	8,6	1130	1,0	73

* T = temperatura, P = padavine

Zbrali smo podatke o povprečni mesečni temperaturi in skupni količini padavin po mesecih za 23 meteoroloških in klimatoloških postaj (preglednica 1, slika 2). Pridobili smo

podatke od januarja do septembra za leto 2012 (ARSO, 2012). Za primerjalno referenčno obdobje smo vzeli obdobje 1971–2000 (ARSO, 2008).



Slika 2: Karta obravnavanih meteoroloških in klimatoloških postaj
Figure 2: Map of meteorological and climatological stations considered

Ker je *B. nummularia* termofilni patogen, smo pri izračunu razlike med povprečno mesečno temperaturo v letu 2012 in povprečno mesečno temperaturo v obdobju 1971–2000 upoštevali samo mesece s povprečno mesečno temperaturo nad 20 °C.

3 REZULTATI

65

Izračun modela za pojava pooglenitve bukve v Sloveniji v letu 2013 po pravilu, ki vključuje samo temperaturni pogoj, je pokazal, da je edino v Godnjah povprečna mesečna temperatura presegla 4 °C v primerjavi z 30 letnim obdobjem 1971–2000 (preglednica 2). Če mejni prag spremembe povprečne mesečne temperature za pojava pooglenitve bukve spustimo na 3 °C, potem se možnost pojava *B. nummularia* razširi še na 12 meteoroloških in klimatoloških postaj. Med verjetnejše lokacije pojava *B. nummularia* v letu 2013 se poleg Godenj uvrščajo postaje z večjo temperaturno razliko, to so Postojna ($\Delta T = 3,9$ °C), Brnik - letališče ($\Delta T = 3,5$ °C), Ljubljana - Bežigrad ($\Delta T = 3,5$ °C), Novo mesto ($\Delta T = 3,5$ °C).

Modelni izračun za potencialen pojava *B. nummularia* v Sloveniji v letu 2013, ki je upošteval tako višje temperature kot pomanjkanje padavin, je pokazal, da nobena postaja ne ustreza ostrim pogojem postavljenega pravila, tj. povprečna temperatura večja za več kot 4 °C in 50 % manj padavin vsaj v 6 mesecih v primerjavi s povprečjem iz obdobja 1971–2000 (preglednica 3). 50 % manj padavin v vsaj 6 mesecih kot v primerjavi z obdobjem 1971–2000 je padlo samo na postaji Portorož - letališče in na postaji Postojna. Če spustimo mejo pomanjkanja padavin na 5 mesecev, se v izboru pojavita še postaji Godnje in Maribor - Tabor.

Pojav pooglenitve bukve je zelo verjeten v okolici postaje Postojna, saj je pri njej bil izmerjen visok temperaturni odklon 3,9 °C, pomanjkanje padavin pa je bilo izmerjeno v 6 mesecih. Zelo verjeten pojava poškodb na bukvi zaradi *B. nummularia* je tudi v okolici postaje Godnje, saj je temperaturno povprečje preseglo 4 °C, manj kot 50 % padavin pa je padlo v 5 mesecih. Med verjetnejše lokacije pojava pooglenitve bukve je model uvrstil postajo Ljubljana - Bežigrad, Veliki Dolenci, Murska Sobota - Rakičan in Bilje. Na postaji Ljubljana - Bežigrad je bila povprečna mesečna temperatura večja za 3,5 °C, manj kot 50 % padavin je padlo v 4 mesecih. Na postajah Veliki Dolenci in Murska Sobota - Rakičan je bila povprečna mesečna temperatura večja za 3,1 °C, pomanjkanje padavin je bilo v 4

mesečih (samo 16–20 % padavin povprečno je padlo v omenjenih 4 mesecih v primerjavi s povprečjem obdobja 1971–2000).

Preglednica 2: Meteorološke in klimatološke postaje, ki so imele razliko v povprečni mesečni temperaturi v letu 2012 nad 3 °C v primerjavi z obdobjem 1971–2000

Table 2: Meteorological and climatological stations that had the difference in average monthly temperature in 2012 above 3 °C in comparison with the period 1971–2000

Postaja	ΔT (°C)
Bilje	3,4
Bizeljsko	3,3
Brnik - letališče	3,5
Črnomelj - Dobljče	3,2
Godnje	4,0
Ljubljana - Bežigrad	3,5
Maribor - Tabor	3,2
Murska Sobota - Rakičan	3,1
Novo mesto	3,5
Polički vrh	3,0
Postojna	3,9
Slovenske Konjice	3,1
Veliki Dolenci	3,1

Na postaji Bilje je bila povprečna mesečna temperatura višja za 3,4 °C v primerjavi z dolgoletnim povprečjem, manj kot 50 % padavin je padlo v 4 mesecih (povprečno 23 % padavin je padlo v primerjavi s povprečjem obdobja 1971–2000).

66

Preglednica 3: Meteorološke in klimatološke postaje, ki so imele razliko v povprečni mesečni temperaturi v letu 2012 nad 2 °C in kjer je padlo manj kot 50 % padavin vsaj v 4 mesecih v letu 2012 v primerjavi z obdobjem 1971–2000

Table 3: Meteorological and climatological stations that had the difference in average monthly temperature in 2012 above 2 °C and below 50 % precipitation amount at least in 4 months in 2012 in comparison with 1971–2000

Postaja	ΔT (°C)	P (%)	n
Bilje	3,4	23	4
Godnje	4,0	28	5
Lesce	2,6	23	4
Ljubljana - Bežigrad	3,5	37	4
Maribor - Tabor	3,2	30	5
Murska Sobota - Rakičan	3,1	20	4
Portorož - letališče	3,0	30	6
Postojna	3,9	30	6
Veliki Dolenci	3,1	16	4

* ΔT = razlika med povprečno mesečno temperaturo v letu 2012 in povprečno mesečno temperaturo v referenčnem obdobju 1971–2000; P = povprečni delež padlih padavin v letu 2012 v primerjavi z obdobjem 1971–2000; n = število mesecev v letu 2012, ko je padlo manj kot 50 % padavin v primerjavi z obdobjem 1971–2000

4 RAZPRAVA

Poletje 2012 je bilo nadpovprečno toplo in sušno (Cegnar, 2012b, 2012a; Cegnar in Gorup, 2012). Zaradi tega se je povečala verjetnost pojava pooglenitve bukve v Sloveniji, ki jo povzročča *B. nummularia*. Z modelom na podlagi dveh pravil smo poskušali določiti območja, kjer bi se lahko pooglenitev bukve potencialno pojavila v Sloveniji v letu 2013.

Iz rezultatov modela lahko vidimo, da je verjetnost pojava *B. nummularia* največja v jugozahodnem, osrednjem, severovzhodnem in jugovzhodnem delu Slovenije.

Rezultati modela nam lahko v določeni meri pomagajo pri spremljanju pojava pooglenitve bukve v letu 2013, saj nam pokažejo, na katera širša območja v Sloveniji se naj osredinimo pri iskanju poškodb zaradi novčičaste biskonjoje.

Pomanjkljivost modela je njegova prostorska ločljivost napovedi, saj se nanaša samo na točkovne lokacije, tj. lokacije meteoroloških postaj. Model bi lahko izboljšali, če bi imeli na voljo klimatološke karte povprečnih mesečnih vrednosti za temperaturo in količino padavin za tekoče leto v večji prostorski ločljivosti (npr. 1 km). Zanesljivost modela bi lahko bila večja, če bi med pravila vključili tudi lastnosti tal, kot so vodna kapaciteta, prepustnost in talni tip, ki zelo vplivajo na pojav sušnega stresa pri navadni bukvi.

Podobne lastnosti kot *B. nummularia* ima *Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) Kuntze, ki se prav tako pojavlja kot fakultativni parazit skorje ob sušnem stresu in višjih temperaturah na ceru (*Quercus cerris* L.) in puhastem hrastu (*Quercus pubescens* Willd.), kjer povzroča bolezen, ki jo imenujemo pooglenitev hrastov. V Sloveniji se je pojavila po letu 2003 v jugozahodnem delu Slovenije (Jurc in Ogris, 2004). Obstaja verjetnost, da bo pooglenitev bukve spremljala tudi pooglenitev hrastov v letu 2013 zaradi sušnega in vročega poletja v 2012.

5 ZAHVALA

Prispevek je nastal v okviru Javne gozdarske službe, naloge Poročevalsko, prognostično-diagnostične službe za gozdove, ki se izvaja na Gozdarskem inštitutu Slovenije in jo financira Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, ter programske skupine za gozdno biologijo, ekologijo in tehnologijo (0404-003).

6 VIRI

- ARSO. 2008. Klimatološka povprečja 1971–2000.
http://meteo.arso.gov.si/met/sl/climate/tables/normals_71_00 (28.11.2012)
- ARSO. 2012. Arhiv - opazovani in merjeni meteorološki podatki po Sloveniji.
<http://meteo.arso.gov.si/met/sl/app/webmet> (28.11.2012)
- Cegnar T. 2012a. Podnebne razmere v avgustu 2012. Naše okolje, 19, 8: 3–23
- Cegnar T. 2012b. Podnebne razmere v juniju 2012. Naše okolje, 19, 6: 3–23
- Cegnar T., Gorup T. 2012. Podnebne razmere v juliju 2012. Naše okolje, 19, 7: 3–22
- Granata G., Sidoti A. 2004. *Biscogniauxia nummularia*: pathogenic agent of a beech decline. Forest Pathology, 34: 363–367
- Hendry S.J., Boddy L., Lonsdale D. 2002. Abiotic variables effect differential expression of latent infections in beech (*Fagus sylvatica*). New Phytologist, 155, 3: 449
- Hendry S.J., Lonsdale D., Boddy L. 1998. Strip-cankering of beech (*Fagus sylvatica*): Pathology and distribution of symptomatic trees. New Phytologist, 140, 3: 549–565
- Jurc D. 2007. Patogeni drevoja in spremembe podnebja v Sloveniji. V: Podnebne spremembe - vpliv na gozd in gozdarstvo. Jurc M. (ed.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire: 203–216
- Jurc D., Ogris N. 2004. Sušenje cera in drugega drevja pod hribom Žekanec. Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije, Poročevalska, diagnostična in prognostična služba za varstvo gozdov: 10 str.
- Jurc D., Ogris N., Jurc M. 2007. Gliva novčičasta biskonjoja (*Biscogniauxia nummularia*) povzroča pooglenitev navadne bukve (*Fagus sylvatica*) na Brkinih. Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije, Poročevalska, diagnostična in prognostična služba za varstvo gozdov: 14 str.
- La Porta N., Capretti P., Thomsen I.M., Kasanen R., Hietala A.M., Von Weissenberg K. 2008. Forest pathogens with higher damage potential due to climate change in Europe. Canadian Journal of Plant Pathology, 30, 2: 177–195
- Lonsdale D., Gibbs J.N. 1996. Effect of climate change on fungal diseases of trees. V: Fungi and environmental change. Symposium of the British Mycological Society, held at Cranfield University, March 1994. Frankland J.C., Magan N., Gadd G.M. (eds.). Cambridge, British Mycological Society: 1–19

- Nugent L.K., Sihanonth P., Thienhirun S., Whalley A.J.S. 2005. *Biscogniauxia*: a genus of latent invaders. *Mycologist*, 19, 1: 40–43
- Ogris N. 2010. Priročnik za določevanje vzrokov poškodb drevja: medmrežna različica. www.zdravgozd.si (1. 12. 2011)
- Ogris N., Jurc D. 2008. Suša je omogočila nekaterim endofitom in fakultativnim parazitom povzročiti poškodbe bukve na področju Reštanja, Bohor. Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije: 5 str.
- Ogris N., Jurc M., Jurc D. 2008. Varstvo bukovih gozdov - danes in jutri. V: Bukovi gozdovi: ekologija in gospodarjenje. Zbornik razširjenih povzetkov XXVI. gozdarskih študijskih dni. Bončina A. (ed.). Čatež ob Savi, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire: 36-39

ODZIV MALIN NA OKUŽBO Z MALINOVO SUŠICO (*DIDYMELLA APPLANATA* IN *LEPTOSPHAERIA CONIOTHYRIUM*)

Maja MIKULIČ-PETKOVŠEK¹, Valentina SCHMITZER², Franci ŠTAMPAR³,
Robert VEBERIČ⁴, Darinka KORON⁵

^{1,2,3,4} Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana,
⁵ Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za sadjarstvo, vinogradništvo in vinarstvo, Ljubljana

IZVLEČEK

Namen poskusa je bil preveriti, kako se med seboj razlikuje fenolni profil zdravih in okuženih malinovitih rozg z malinovo sušico, ki jo povzročata glivi *Didymella applanata* in *Leptosphaeria coniothyrium*. Rozge smo vzorčili na treh sortah 'Autumn Bliss', 'Himbo Top' in 'Polka'. Vsebnost skupnih fenolov in taninov smo določili spektrofotometrično, medtem ko smo posamezne fenole analizirali s HPLC-MS. Okužba z obema glivama, ki povzročata sušico, je značilno spremenila vsebnost fenolnih snovi. Z okužbo se je povečala zlasti vsebnost flavanolor in taninov. Ravno nasprotno pa se je z okužbo zmanjšala vsebnost derivatov hidroksicimetnih kislin in elagne kisline ter flavanolor. Sorti 'Himbo Top' in 'Polka' sta vsebovala višje vsebnosti derivatov hidroksicimetnih kislin in elagne kisline v zdravih in obolelih rozgah v primerjavi s sorto 'Autumn Bliss'. Sorta 'Polka' je imela tudi najvišje vsebnosti flavanolor in taninov v primerjavi z ostali dvema sortama. Kljub visokim vsebnostim individualnih in skupnih fenolov so bile rozge sorte 'Polka' močno okužene z *D. applanata* in *L. coniothyrium*. Rezultati zato nakazujejo, da je mogoče povezati vsebnost fenolov z občutljivostjo na sušico.

Ključne besede: fenolne spojine, malinova sušica, obrambni mehanizem, rozge

ABSTRACT

CHANGES IN PHENOLIC PATTERN DUE TO RASPBERRY SPUR AND CANE BLIGHT (*DIDYMELLA APPLANATA* AND *LEPTOSPHAERIA CONIOTHYRIUM*)

The phenolic profile of healthy and infected raspberry canes was investigated on three raspberry cultivars: 'Autumn Bliss', 'Himbo Top' and 'Polka'. The content of total phenols and tannins was determined spectrophotometrically, while individual phenolics were analyzed using HPLC-MS analysis. Moreover, *Didymella applanata* and *Leptosphaeria coniothyrium* infection significantly altered the metabolism of phenolic compounds. Spur and cane blight diseases caused an increase of flavanols and tannins. Contrary, the levels of hydroxycinnamic acid derivatives, conjugates of ellagic acid and quercetin glycosides were significantly reduced. 'Himbo Top' and 'Polka' cultivars contained higher levels of hydroxycinnamic acid and ellagic acid derivatives in healthy and infected canes compared to 'Autumn Bliss' cultivar. 'Polka' cultivar also contained the highest level of flavanols and tannins compared to other two cultivars. However, despite high content levels of flavanols and total phenols measured in 'Polka' cultivar the canes were extremely infected with *D.*

¹ asist. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana; E-mail: maja.Mikulič-Petkovšek@bf.uni-lj.si

² asist. dr., prav tam

³ prof. dr., prav tam

⁴ izr. prof. dr., prav tam

⁵ mag., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

applanata and *L. coniothyrium*. The results of the study suggest that the level of phenolic compounds could be linked to the differences in disease susceptibility.

Key words: canes, defence mechanism, phenolic compounds, spur and cane blight

1 Uvod

Polifenolne spojine imajo v rastlini različne funkcije. Sodelujejo pri pigmentaciji, rasti, razvoju in imajo tudi obrambno funkcijo. Raziskave so pokazale, da imajo fenoli iz skupine flavonoidov, taninov in lignanov antifugicidno delovanje. Rastline se na okužbo patogenov odzovejo s sintezo nekaterih fenolnih spojin, še posebej s fenolnimi kislinami. Fenolne kisline (klorogenska, *p*-kumarna in kavina kislina) preprečijo širitev patogena z lignifikacijo poškodovanih delov rastline (Treutter, 2006). Pri jablani imajo flavonoli in flavan-3-oli pomembno funkcijo pri odpornosti proti glivi *Venturia inaequalis*. V okuženih tkivih so ugotovili akumulacijo dihidrohalkonov in flavan-3-olov (katehina, epikatehina, procianidinov) (Mikulič-Petkovšek in sod., 2011; Mikulič-Petkovšek in sod., 2009). V raziskavi smo poskušali ugotoviti, ali okužba z malinovo sušico na rozgah malin povzroči spremembe v vsebnosti posameznih fenolnih spojin.

2 MATERIAL IN METODE

Poskus je potekal v letih 2009-2012 v sadovnjaku Kmetijskega inštituta Slovenije, ki se nahaja na Brdu pri Lukovici. V poskus smo imeli vključene tri sorte malin: 'Autumn Bliss', 'Himbo Top' in 'Polka', iz katerih smo v letu 2012 vzorčili zdrave in z malinovo sušico okužene rozge. Nabrali smo 20 rozg vsake sorte in jih takoj zamrznili v tekočem dušiku in jih do analiz shranili v zamrzovalniku pri -20 °C. Iz okuženega tkiva na rozgah smo tik pred analizo izrezali okužene dele z 1-2 mm pasom zdravega tkiva. V štirih letih poskusa smo ocenjevali stopnjo okužbe malin po lestvici (Kikas in sod., 2002). Ekstrakcijo fenolov smo izvedli po metodi (Mikulič-Petkovšek in sod., 2011). 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 sod., 1999) ter vsebnost taninov (725 nm) po DPPH metodi (Makkar in sod., 2007). Podatke smo statistično obdelali s programom Statgraphic Plus 4.0. Uporabili smo dvosmerno analizo variance ($p < 0,05$).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V rozgah malin največji delež predstavljajo fenoli iz skupine flavanolov (približno 90%), v manjši meri so glikozidi kvercetina (6%), nato sledijo derivati elagne kisline (3%), najmanj pa je hidrokscimetnih kislin in njenih derivatov (manj kot 1%). Rezultati kažejo, da je okuženo tkivo na rozgah imelo značilno nižje vsebnosti skupnih hidrokscimetnih derivatov (slika 1 A). Z okužbo se je njihova vsebnost zmanjšala za približno 10 do 35%. Zmanjšanje njihove vsebnosti zaradi okužbe gre pripisati temu, ker so fenolne kisline osnova za nastanek lignina, suberina in lignanov (Boerjan in sod., 2003). V sintezni poti se cimetne kisline porabljajo, kar se odraža na njihovi manjši vsebnosti pri obolelem tkivu, obratno pa se na obolelih mestih rozge nalaga opluteno tkivo, ki je sestavljeno predvsem iz lignina, suberina in lignanov. Sorti 'Himbo Top' in 'Polka' sta imeli v rozgah značilno višjo vsebnost derivatov hidrokscimetnih kislin v primerjavi s sorto 'Autumn Bliss'. Ta odziv rastline gre verjetno pojasniti s stopnjo okužbe na rozgah, saj je sorta 'Autumn bliss' skozi štiri leta spremljanja pokazala najmanjšo stopnjo okuženosti z glivama *Didimella applanata* in *Leptosphaeria coniothyrium* (preglednica 1). Znano je namreč, da se vsebnost hidrokscimetnih kislin z okužbo spremeni (Mikulič-Petkovšek in sod., 2011).

Preglednica 1: Stopnja okuženosti rozg malin z glivama *Didymella applanata* in *Leptosphaeria coniothyrium* v letih od 2009 do 2012.

Table 1: Infection rate of primocane raspberries by *Didymella applanata* and *Leptosphaeria coniothyrium* from planting in 2009 to 2012

Sorta /Leto	2009	2010	2011	2012
'Autumn Bliss'	1	3	3	7
'Himbo Top'	1	3	5	9
'Polka'	1	7	9	9

Stopnja okužbe je bila ocenjena po naslednji lestvici: 1= nepoškodovano 0%, 2 = zelo majhne poškodbe < 5 %, 3 = majhne poškodbe 5-25 %, 5= srednje poškodbe 26-50 %, 7= močne poškodbe 51-75 %, 9= zelo močne poškodbe 76-100 %.

Skupina flavan-3-olov je pri malinah zelo obsežna tako po vsebnosti kot tudi po številčnosti. V rozgah so bili analizirani številni procianidin dimeri in trimeri. Rezultati kažejo, da so imele okužene rozge 1,4 do 2,5 krat višje vsebnosti flavan-3-olov v primerjavi z zdravimi (slika 1 B). Predhodne objave tudi poročajo o višjih vsebnostih flavanolov v tkivih okuženih z različnimi patogeni (Rusjan in sod., 2012a). Po največji vsebnosti skupnih flavan-3-olov je izstopala sorta Polka, ki je imela do 2,5 krat višjo vsebnost v primerjavi s sortama 'Himbo Top' in 'Autumn Bliss'. Po nekaterih študijah smatrajo, da je visoka vsebnost flavanolov v rastlinskih tkivih razlog za večjo odpornost (Leser and Treutter, 2005). To sicer ne drži za sorto Polka, saj je v treh letih spremljanja imela res visoke stopnje okužbe z glivama *D. applanata* in *L. coniothyrium*. Rozge so bile precej napadene z omenjenima patogeni in so tako imele od 51 do 90% stopnjo okužbe.

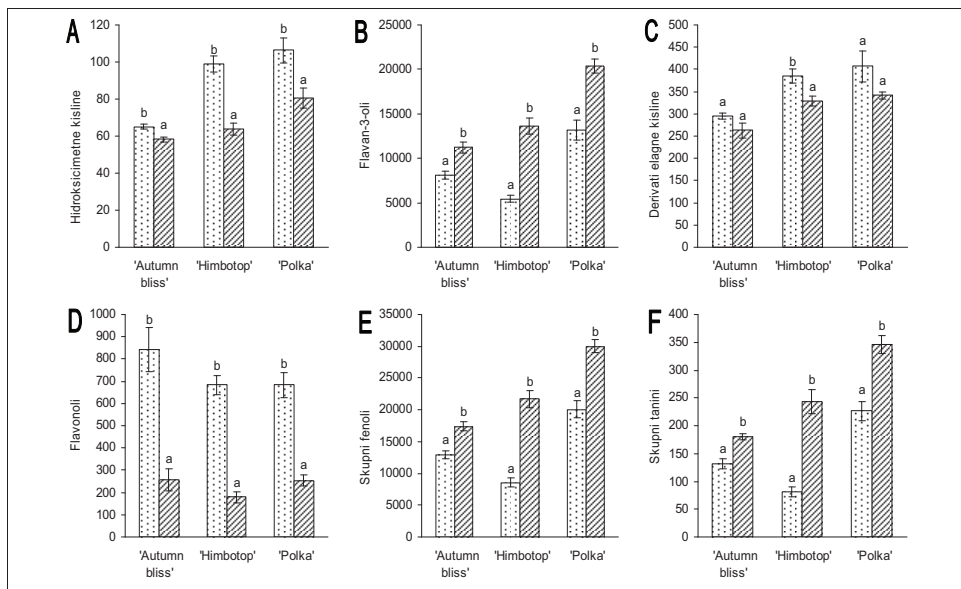
Za vrste iz rodu *Rubus* so značilni predvsem derivati elagne kisline. Na osnovno komponento elagne kisline se vežejo različni sladkorji kot tudi druge skupine (npr etil in metil). V rozgah smo analizirali osem derivatov elagne kisline. Rezultati so pokazali, da so imele zdrave rozge značilno višje vsebnosti derivatov elagne kisline v primerjavi z bolanim tkivom (slika 1 C). Ta učinek lahko pojasnimo z dejstvom, da se verjetno derivati elagne kisline pri okužbi s patogeni porabljajo za nastanek taninov. Tudi Pfabel in sod. (2012) poročajo, da se vsebnost taninov z okužbo poveča, kar gre verjetno na račun zmanjšanja konjugatov elagne kisline, saj je elagna kislina predstopnja v sintezni poti taninov.

Obratna slika kot pri derivatih elagne kisline se je pokazala pri vsebnosti skupnih taninov v rozgah maline. Okužene rozge vseh proučevanih sorti so imele značilno višje vsebnosti taninov v primerjavi z zdravimi rozgami (slika 1 F). Obolela mesta na rozgah so tako imela 1,4 do 3 krat višje vsebnosti taninov kot zdravo tkivo. Ta rezultat nam potrjuje, da se je res verjetno na račun zmanjšanja ellagnih komponent povečala vsebnost taninov.

Iz skupine flavanolov smo analizirali samo glikozide kvercetina (K), in sicer K-3-galaktozid, K-3-glukozid, K-3-arabinozid, K-3-glukuronid in K-3-ksilozilglukuronid. Največji odstotek k njihovi vsoti prispeva K-3-glukuronid, in sicer 45 do 70% vsote flavanolov. Rezultati so pokazali, da je okužba privedla do zmanjšanja vsebnosti kvercetinov v obolem tkivu rozg, saj se je njihova vsebnost zaradi okužbe zmanjšala za 2,7 do 3,8 krat v primerjavi z zdravim tkivom (slika 1 D). Verjetno do tega pride na račun povečanja flavan-3-olov pri okuženem tkivu, zaradi česar se posledično zmanjša vsebnost kvercetinov, saj so le ti predstopnja v fenilpropanoidni poti in se intenzivno porabljajo za nastanek mono- in polimernih flavan-3-olov.

Vsebnost skupnih fenolov je odraz vseh analiziranih posameznih fenolov ter predvsem flavan-3-olov, ki zaradi njihove visoke vsebnosti največ prispevajo k skupnim fenolom. Odziv rastline na okužbo se je odrazil na 1,3 do 2,5 kratnem povečanju skupnih fenolov (slika 1 E). Tudi druge raziskave kažejo, da se vsebnost skupnih fenolov v rastlinah zaradi napada

škodljivcev ali okužb s patogeni, bakterijami ali virusi izrazito poveča (Mikulič-Petkovšek in sod., 2009, 2011; Rusjan in sod., 2012b).



Slika 1: Vsebnost skupnih hidroksicimetnih kislin, flavan-3-olov, taninov, flavonolov, derivatov elagne kisline in skupnih fenolov (v mg/kg sveže mase (SM) v zdravih in z malinovo sušico okuženih rozgah treh sort maline. □ zdravo tkivo ▨ okuženo tkivo

Figure 1: The content of total hydroxycinnamic acids, flavan-3-ols, tannins, derivatives of ellagic acid and total phenolics [in mg/kg fresh weight (FW)] in healthy and in spur and cane blight infected canes at three cultivars. □ healthy tissue ▨ infected tissue

4 Sklepi

Na rozgah sta glivi *Didymella applanata* in *Leptosphaeria coniothyrium* povzročili spremembo sekundarnega metabolizma. Okuženo tkivo je imelo značilno višje vsebnosti flavonolov, skupnih fenolov in taninov ter značilno manj hidroksicimetnih kislin, derivatov elagne kisline ter flavonolov v primerjavi z zdravim tkivom.

5 LITERATURA

- Boerjan, W., Ralph, J., Baucher, M., 2003. Lignin biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 54: 519-546.
- Kikas, A., Libek, A., Hanni, L., 2002. Evaluation of raspberry cultivars in Estonia. *Acta Horticulturae*, 585: 203-207.
- Leser, C., Treutter, D., 2005. Effects of nitrogen supply on growth, contents of phenolic compounds and pathogen (scab) resistance of apple trees. *Physiol. Plant.*, 123: 49-56.
- Makkar, H.P.S., Siddhuraju, P., Becker, K., 2007. *Methods in molecular biology. V: Plant secondary metabolites.* 393: 67-81.
- Mikulič-Petkovšek, M., Slatnar, A., Štampar, F., Veberič, R., 2011. Phenolic compounds in apple leaves after infection with apple scab. *Biol. Plant.*, 55: 725-730.

- Mikulič-Petkovšek, M., Štampar, F., Veberič, R., 2009. Accumulation of phenolic compounds in apple in response to infection by the scab pathogen, *Venturia inaequalis*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 74: 60-67.
- Pfabel, C., Eckhardt, K.U., Baum, C., Struck, C., Frey, P., Weih, M., 2012. Impact of ectomycorrhizal colonization and rust infection on the secondary metabolism of poplar (*Populus trichocarpa* x *deltoides*). *Tree Physiol.*, 32: 1357-1364.
- Rusjan, D., Halbvirth, H., Stich, K., Mikulič-Petkovšek, M., Veberič, R., 2012a. Biochemical response of grapevine variety 'Chardonnay' (*Vitis vinifera* L.) to infection with grapevine yellows (*Bois noir*). *Eur. J. Plant Pathol.*, 134: 231-237.
- Rusjan, D., Veberič, R., Mikulič-Petkovšek, M., 2012b. The response of phenolic compounds in grapes of the variety 'Chardonnay' (*Vitis vinifera* L.) to the infection by phytoplasma *Bois noir*. *Eur. J. Plant Pathol.*, 133: 965-974.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. V: Packer, L. (ur.), *Oxidants and Antioxidants*, Pt A. Elsevier Academic Press Inc, San Diego, s. 152-178.
- Treutter, D., 2006. Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environ. Chem. Lett.*, 4: 147-157.

IZBIRA METODE EKSTRAKCIJE DNK ZA SPREMLJANJE ORGANIZMA ZA BIOTIČNO ZATIRANJE, *Gliocladium catenulatum* J1446

Manca PIRC¹, Tanja DREO²

^{1,2}Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo,
Ljubljana

IZVLEČEK

Siva plesen, ki jo povzroča gliva *Botrytis cinerea*, je ena izmed najpogostejših in najresnejših boleznih v pridelavi jagod. Za zatiranje se uporabljajo različni fungicidi, na katere glive razvijajo odpornost. Tako se v zadnjih letih posveča veliko pozornosti tudi biotičnemu zatiranju. V nekaterih evropskih državah je na voljo pripravek Prestop[®] MIX (Verdera Oy, Finska), kjer je organizem za biotično zatiranje (BCA) izolat glive *Gliocladium catenulatum*, J1446, ki je aktiven proti sivi plesni. V okviru evropskega ERA net projekta Bicopoll, ki je eden od projektov CORE Organic II, spremljamo učinkovitost raznosa BCA na cvetove jagod s čebelami in preverjamo morebitne ostanke BCA v medu in cvetnem prahu. V ta namen smo razvili novo, za BCA izolat specifično metodo PCR v realnem času, ki nam omogoča zaznavo izolata in njegovo kvantifikacijo v različnih vzorcih. V začetni fazi razvoja smo se osredotočili na razvoj metod ekstrakcije DNA iz pripravka Prestop[®] MIX.

Ključne besede: biotično zatiranje, siva plesen, *Gliocladium catenulatum*, PCR v realnem času

74

ABSTRACT

SELECTION OF DNA EXTRACTION METHOD FOR MONITORING OF BIOCONTROL AGENT, *Gliocladium catenulatum* J1446

Gray mold, caused by the fungus *Botrytis cinerea*, is one of the most common and serious diseases affecting strawberries. Different fungicides are used to manage this disease but fungi can develop resistance on it. Therefore, much attention is devoted to biological methods of control in recent years. Preparation Prestop[®] MIX (Verdera Oy, Finland) is available in some European countries. It contains a biocontrol agent (BCA), isolate J1446 of the fungus *Gliocladium catenulatum*, active against grey mold. In the project Bicopoll, a project of European transnational research cooperation project CORE Organic II, we are monitoring the effectiveness of BCA spreading on strawberry flowers by bees and checking for residues of BSA in bee products (honey, pollen). For this purpose, we developed a new, BCA specific real time PCR, which allows us to detect BCA in different samples and quantify it. In the early stages of development, we focused on the development of DNA extraction methods from product Prestop[®] MIX.

Key words: biological control, grey mold, *Gliocladium catenulatum*, real time PCR

¹ dr., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

² dr., prav tam

1 UVOD

Siva plesen na jagodah je razširjena bolezen, ki jo povzroča gliva *Botrytis cinerea*. Največkrat so vir okužbe odmrli listi gostiteljskih rastlin. Preventivni ukrepi za preprečevanje bolezni so sprotno odstranjevanje obolelih delov, znižanje vlage ter povečanje pretoka zraka. Jagode so za sivo plesen najbolj občutljive v fazi cvetnih popkov. Pri konvencionalni pridelavi se za zatiranje uporabljajo različni fungicidi, ki jih je potrebno uporabiti večkrat v sezoni. Kljub uporabi fungicidov so lahko izgube pridelka visoke (10-20%, Strömeng 2008; 25-35%, IPMCenters 2011). Pri ekološki pridelavi jagod, kjer je uporaba kemičnih sredstev omejena, pa je izguba pridelka navadno še višja in doseže tudi 100%. Zato je za ekološko pridelavo zelo pomemben razvoj sredstev za biotično zatiranje. Biotično sredstvo za zatiranje sive plesni, ki je že na voljo v nekaterih državah Evrope, je Prestop[®] MIX finskega proizvajalca Verdera Oy (<http://www.verdera.fi/en/front-page/>), kjer je aktivna snov organizem *Gliocladium catenulatum*, sev J1446.

Sev J1446 glive *Gliocladium catenulatum* je bil izoliran iz zemlje na Finskem. Deluje kot mikoparazit in tudi tekmuje z ostalimi glivami za življenjski prostor in hranila. Na podlagi znanih podatkov gliva ne tvori toksinov in antibiotikov. Sredstvo se uporablja tudi za varstvo nekaterih drugih rastlin pred različnimi vrstami gliv npr. pred *Didymella* sp., *Botrytis* sp., *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* in *Fusarium* spp.

V začetnih poskusih uporabe tega produkta pri zatiranju sive plesni na jagodah sredstvo ni bilo zelo učinkovito zaradi neučinkovitega raznosa. Pri škropljenju niso vsi cvetovi v isti fazi cvetenja in za učinkovito varstvo bi bilo potrebno škropljenje prepogosto ponavljati. Možnost za izboljšanje raznosa je uporaba čebel (Hokkanen s sod., 2011). Te ob izhodu iz panja prečkajo dispenzor s sredstvom, ki se jih oprime. Čebele sredstvo prenesejo na cvetove, ki jih obiščejo in so najbolj občutljivi za okužbo. Na tak način bi bil raznos sredstva učinkovitejši. V okviru evropskega ERA net projekta Bicopoll, ki je eden od projektov CORE Organic II želimo ugotoviti kakšna je učinkovitost takega raznosa, kakšen je vpliv sredstva na čebele ter ugotoviti ostanke sredstva v čebeljih produktih. Za namen spremljanja in kvantifikacije *G. catenulatum* J1446 smo razvili metodo PCR v realnem času s specifičnimi oligonukleotidnimi začetniki in sondo ter preizkusili nekaj metod ekstrakcije DNA s katerimi bi učinkovito izolirali DNA glive *Gliocladium catenulatum* J1446 iz različnih matriksov. Prikazujemo rezultate preizkušanja različnih postopkov izolacije DNA iz pripravka Prestop[®] MIX, ki poleg BCA vsebuje tudi nosilne snovi.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Priprava suspenzije pripravka Prestop[®] MIX

Pripravili smo 0,1% mešanico pripravka Prestop[®] MIX v pufru PBS – Tween. Suspenzijo smo na magnetnem mešalu 1 uro mešali s hitrostjo 300 rpm pri sobni temperaturi. Nato smo suspenzijo alikvotirali po 1 mL v 2 mL mikrocentrifugirke in do uporabe zamrzili pri -20°C.

2.2 Metode ekstrakcije DNA

Na podlagi izkušenj in pregleda literature smo izbrali 5 načinov ekstrakcije DNA z uporabo magnetnih delcev prekritih s silikonom v kombinaciji z različnimi postopki lize ter z uporabo silikonskih kolon v kombinaciji z mehansko in kemično lizo. Postopki so bili sledeči:

1. QuickPick[™] SML Plant DNA (Bio-Nobile) z uporabo KingFisher[®] mL sistema (Thermo LabSystem) po protokolu iz Pirc s sod., 2009.

2. QuickPick™ SML Plant DNA, modifikacija: inkubacijo lize na 65°C smo podaljšali iz 30 min na čez noč. Z podaljšanjem delovanja pufra za lizo in proteinase K smo želeli povečati učinkovitost lize glivnih spor.
3. QuickPick™ SML Plant DNA, modifikacija: dodaten korak sonikacije po dodatku pufra za lizo. Sonikacija je potekala v Iskra Sonis4 pri 30 Hz 4 minute. S korakom sonikacije smo želeli povečati učinkovitost lize glivnih spor.
4. QuickPick™ SML Plant DNA, modifikacija: dodaten korak tretja s matriksom za lizo B (MP) po dodatku pufra za lizo. Tretje smo izvajali z aparaturo FastPrep (MP) pri hitrosti 6 m/s 1 minuto z namenom mehanske poškodbe glivnih spor.
5. Fast DNA kit for soil (MP) po navodilih proizvajalca.

Za vsak postopek ekstrakcije DNA smo testirali tri 0,1% mešanice pripravka Prestop® MIX.

2.3 Izvedba PCR v realnem času

PCR v realnem času smo izvedli s specifičnimi oligonukleotidnimi začetniki in sondo, ki smo jih razvili na regiji, kjer so bili razviti specifični oligonukleotidni začetniki za PCR (Paavanan – Huhtala in sod., 2000). Testirali smo neredčeno, 10x in 100 redčeno DNA v treh ponovitvah. Ploščico smo pokrili z optično folijo, jo centrifugirali in vstavili v 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

76

Na podlagi literature in izkušenj smo za ekstrakcijo DNA iz organizma za biotično zatiranje iz pripravka Prestop® MIX izbrali dva komercialna kita: QuickPick™ SML Plant DNA (Bio-Nobile) in Fast DNA kit for soil (MP).

Preglednica 1: Rezultati primerjave C_q vrednosti pri različnih postopkih ekstrakcije DNA pri neredčeni, 10x in 100x redčeni DNA izolirani iz suspenzije pripravka Prestop® MIX

	neredčena DNA			10 x redčena DNA			100 x redčena DNA		
Postopek 1	neg (45)	neg (45)	43,5	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)
	35,8	37,6	neg (45)	41,7	neg (45)	37,3	neg (45)	neg (45)	neg (45)
	36,9	neg (45)	40,5	neg (45)	36,0	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)
Postopek 2	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)
	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)
	neg (45)	neg (45)	40,5	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)
Postopek 3	39,2	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)
	neg (45)	37,2	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)
	36,5	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)
Postopek 4	neg (45)	36,4	36,3	34,7	36,2	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)
	41,2	36,6	neg (45)	neg (45)	35,9	36,3	neg (45)	neg (45)	neg (45)
	37,8	36,2	35,2	neg (45)	38,2	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)
Postopek 5	27,3	27,3	27,4	30,9	30,5	31,0	33,9	34,6	33,5
	27,2	26,9	27,0	30,7	30,8	30,6	33,8	34,9	33,7
	27,2	27,0	27,2	30,7	31,8	31,0	34,3	34,9	33,5
NKI	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)	neg (45)
	neg (45)	neg (45)	neg (45)	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND – ni testirano

Prvega smo preverjali v kombinaciji z modificiranimi postopki lize spor, ki so prevladujoča oblika glive v pripravku. Rezultat primerjave Cq vrednosti s PCR v realnem času (preglednica 1) so pokazali, da je metoda ekstrakcije s kitom Fast DNA kit for soil (MP) neprimerno učinkovitejša in ponovljiva v primerjavi z osnovno izvedbo ekstrakcije DNA s kitom QuickPick™ SML Plant DNA (Bio-Nobile) ali njenih modifikacij.

4 SKLEPI

Ugotovili smo, da je izbor metode ekstrakcije DNA iz suspenzije pripravka Prestop® MIX zelo pomembna, saj je učinkovitost med metodami različna.

Kot najprimernejša metoda za ekstrakcijo DNA iz suspenzije pripravka Prestop® MIX se je izkazal kit Fast DNA Spin for soil (MP), ki združuje kemično in mehansko lizo spor.

5 ZAHVALA

Zahvaljujemo se Ministrstvu za kmetijstvo in okolje za financiranje projekta Bicopoll ter Oddelku za entomologijo Nacionalnega inštituta za biologijo za sodelovanje pri tem projektu.

6 VIRI

Hokkanen HMT, Menzler-Hokkanen I, Mustalahti A-M (2011) Honey bees (*Apis mellifera*) for precision biocontrol of grey mould (*Botrytis cinerea*) with *Gliocladium catenulatum* on strawberries and raspberries in Finland. Arthropod-Plant Interactions.

IPMCenters (2011): Crop Profile for Strawberries in Louisiana. Available at <http://www.ipmcenters.org/cropprofiles/docs/LAstrawberries.pdf>, accessed on 22.4.2013

Paavananen–Huntala S, Avikainen H, Yli-Mattila T. 2000. Development of strain – specific primers for a strain of *Gliocladium catenulatum* used in biological control. European Journal of Plant Pathology 106: 187-198

Pirc M, Ravnihar M, Tomlinson J & Dreo T. 2009. Improved fire blight diagnostics using quantitative real-time PCR detection of *Erwinia amylovora* chromosomal DNA. Plant Pathology, 58, 872-881.

Strømeng, G. M. 2008. Aspects of the biology of *Botrytis cinerea* in strawberry (*Fragaria x ananassa*) and alternative methods for disease control. Philosophiae Doctor (PhD) Thesis 2008: 56.

VREDNOTENJE TOLERANTNOSTI SORT IN TIPOV MARELICE NA LEPTONEKROZO KOŠČIČARJEV (ESFY)

Barbara AMBROŽIČ TURK¹, Nikita FAJT², Nataša MEHLE³, Marina DERMASTIA⁴,
Irena MAVRIČ PLEŠKO⁵

^{1,5} Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

² KGZS - Zavod Nova Gorica, Nova Gorica

^{3,4} Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana

IZVLEČEK

Koščičaste sadne vrste iz roda *Prunus* v Evropi ogroža nevarna bolezen klorotičnega zvijanja listov koščičarjev ali leptonekroza koščičarjev, ki jo povzroča fitoplazma European stone fruit yellows (ESFY) in se na gostiteljske rastline širi s prenašalcem češpljevo bolšico. Marelica (*P. armeniaca*) je za okužbo s fitoplazmo dovzetna in občutljiva sadna vrsta, ki kaže izrazita bolezenska znamenja in postopno odmiranje dreves, predvsem pri občutljivih sortah. Pojav propadanja dreves pri marelici je v našem okolju precej pogost in vpliva na opuščanje pridelave te sadne vrste. V Sloveniji je na nekaterih območjih še nekaj domačih, lokalnih tipov oziroma avtohtonih sort marelice s kakovostnimi plodovi, ki so se uspeli ohraniti do danes. V okoljih z velikim infekcijskim pritiskom fitoplazme, kar je značilno tudi za pridelovalna območja koščičarjev v Sloveniji, lahko sajenje tolerantnih sort marelice omogoči pridelavo te občutljive sadne vrste. Namen tega prispevka je predstavitev navodil za vrednotenje tolerantnosti različnih sort in tipov pri marelici na okužbo s fitoplazmo ESFY. S tem želimo spodbuditi pridelovalce k izbiri tolerantnejših sort za gojenje ter tako prispevati k večjemu zanimanju za pridelavo marelice.

Ključne besede: fitoplazma ESFY, marelice, občutljivost, sorte, tolerantnost

ABSTRACT

TOLERANCE ASSESSMENT OF DIFFERENT *PRUNUS ARMENIACA* CULTIVARS TO EUROPEAN STONE FRUIT YELLOWS PHYTOPLASMA

Stone fruit species (genus *Prunus*) in Europe are affected by severe disease associated with the European stone fruit yellows (ESFY) phytoplasma. The pathogen is transmitted to the host plants by the vector *Cacopsylla pruni*. Among *Prunus* species, apricot *P. armeniaca* is one of the most susceptible and sensitive to ESFY phytoplasma infection, which shows characteristic symptoms and decline of the trees, particularly on sensitive cultivars. In Slovenia the decline of apricot trees is evident and causes the reduction of apricot production. There are some old local cultivars or types of apricot which are still present in some areas in Slovenia and produce good quality fruits. In areas with high infection pressure of phytoplasma, which is also typical for our stone fruit production areas, the use of tolerant cultivars can help to maintain the production. The aim of this paper is the presentation of guidelines to evaluate the sensitiveness / tolerance of different apricot cultivars and types to

¹ mag., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

² dr., Pri hrastu 1,8, SI-5000 Nova Gorica

³ mag., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

⁴ prof. dr., prav tam

⁵ dr., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

ESFY infection. The choice and cultivation of more tolerant cultivars may contribute to enhance the apricot production.

Key words: apricot, cultivars, phytoplasma ESFY, sensitiveness, tolerance

1 UVOD

Koščičaste sadne vrste iz rodu *Prunus* v Evropi resno ogroža nevarna bolezen klorotičnega zvijanja listov koščičarjev ali leptonekroza koščičarjev, ki jo povzroča fitoplazma European stone fruit yellows – ESFY, '*Candidatus* Phytoplasma prunorum'. Na gostiteljske rastline se širi s prenašalcem češpljevo bolšico *Cacopsylla pruni* (Carraro *et al.*, 1998). Bolezen se prenaša tudi z vegetativnim razmnoževanjem. Vrste iz rodu *Prunus* so za okužbo s fitoplazmo ESFY različno občutljive, kar se kaže z različnim izražanjem bolezenskih znamenj. Predvsem marelica (*P. armeniaca*) in kitajsko-japonska sliva (*P. salicina*) sta za okužbo z ESFY zelo občutljivi in kažeta izrazita bolezenska znamenja ter precejšnje odmiranje dreves, zlasti občutljive sorte (Carraro in Osler, 2003). Različne vrste sliv *P. domestica* (evropska sliva), *P. spinosa* (črni trn), *P. cerasifera* (mirobalana), *P. insititia* (cibora) so za okužbo dovzetne, vendar ne razvijejo bolezenskih znamenj – so tolerantne. Prav tako je pri podlagah ugotovljena različna občutljivost za okužbo z ESFY. Izražanje bolezenskih znamenj se torej zelo razlikuje in je odvisno od rastlinske vrste, podlage in sorte pa tudi od koncentracije fitoplazme, virulence seva, podnebnih razmer, starosti gostitelja in številčnosti populacije prenašalcev. Ne glede na številne poskuse pa rastlin, ki bi bile zadovoljivo odporne na ESFY, do danes še niso uspeli določiti (Marcone *et al.*, 2010).

79

V Sloveniji se soočamo z velikim infekcijskim pritiskom ESFY tudi zaradi velike razširjenosti gostiteljskih rastlin. Črni trn (*P. spinosa*), ki je pri nas v naravi splošno razširjen, predstavlja pomemben naravni rezervoar ESFY fitoplazme, še zlasti zato, ker je zelo vabljev gostitelj češpljeve bolšice (Labonne in Lichou, 2004). Spremljanje te bolezni je potrdilo njen pojav na območjih, kjer se gojijo koščičaste sadne vrste (Mehle *et al.*, 2011). Zaradi težav pri ohranjanju zdravih matičnih rastlin na prostem, vzdržujemo matična drevesa koščičarjev v varovanih razmerah mrežnika (Ambrožič Turk *et al.*, 2011). V takem okolju, kjer je bolezen razširjena in ustaljena, lahko gojenje tolerantnih sort omogoči pridelavo občutljivih sadnih vrst, kot je marelica.

Pojav propadanja dreves pri marelici je v našem okolju precej pogost in vpliva na znatno opuščanje pridelave te sadne vrste v Sloveniji. Na propadanje dreves pri marelicah pomembno vpliva tudi občutljivost sort za bolezen kot je ESFY. V Sloveniji je na nekaterih območjih (Goriška Brda, Vipavska dolina, Posavje) še nekaj domačih, lokalnih tipov oziroma avtohtonih sort marelice s kakovostnimi plodovi, ki so se uspeli ohraniti do danes. Namen tega dela je predstaviti podlage za vrednotenje občutljivosti/ tolerantnosti nekaterih avtohtonih sort ali lokalnih tipov marelice na okužbo z ESFY v primerjavi s sodobnimi, tržnimi sortami marelic, ki se širijo v pridelavi. Hkrati želimo prispevati k odbiri in ohranjanju avtohtonega materiala, ki lahko pomeni za pridelovalca bolj zanesljiv način pridelave in s tem vzpodbuditi povečano zanimanje za pridelavo marelice.

2 PREGLED IN ANALIZA RAZISKAV

Mnogi avtorji poročajo o razširjenosti ESFY v različnih evropskih državah ter o težavah pri gojenju predvsem tam, kjer je razširjena pridelava občutljivih sadnih vrst, kot je marelica in kitajsko-japonska sliva (Carraro in Osler, 2003). Raziskava spremljanja fitoplazme ESFY v Češki Republiki je potrdila okuženost pri vseh glavnih sortah marelice, ki jih tam gojijo. Okužena drevesa so navadno imela značilna bolezenska znamenja (Fialova *et al.*, 2004). O

povečanem pojavu propadanja marelic v intenzivnih sadovnjakih, pri katerih je bila potrjena fitoplazma, poročajo v Avstriji. Ugotavljajo, da je pojav propadanja marelic odvisen od podlage, sorte in starosti dreves, pri kateri so bila prvič opažena znamenja boleznih ter da je propadanje pri novejših sortah večje (Laimer Da Camara Machado *et al.*, 2001). Podobno poročata tudi Ramel in Gugerli (2004) za razmere v glavnem pridelovalnem območju za marelico v zahodni Švici, kjer se je bolezen, ki jo povzroča fitoplazma ESFY naglo širila, in povzročila predvsem v sadovnjakih z novejšimi, netradicionalnimi sortami pomembno škodo. V epidemioloških raziskavah o razširjenosti fitoplazme ESFY v nasadih marelic v južni Franciji je poudarjen pomen okuženosti divjih vrst iz rodu *Prunus*, v okolici intenzivnih nasadov, ki predstavljajo vstopna mesta novih okužb v sadovnjake, zaradi česar se je začel program odstranjevanja obolelih gostiteljskih rastlin tudi v okolici sadovnjakov (Jarausch *et al.*, 2001).

O obsežni raziskavi ocenjevanja variabilnosti pri obnašanju 155 sort in tipov marelice po okužbi s fitoplazmo apricot chlorotic leafroll (sev G 32 Noves) poroča Audergon s sod. (1991). Ugotovili so, da je izražanje bolezenskih znamenj med sortami zelo različno, pri čemer so bile nekatere zelo občutljive z izrazitim in hitrim izražanjem bolezenskih znamenj že 5 mesecev po inokulaciji in bi jih lahko uporabili za indikatorje, medtem ko so bile nekatere druge tolerantne, brez bolezenskih znamenj. Ugotovljeno je bilo tudi, da se sorte, ki so bile eksperimentalno okužene, obnašajo podobno kot pri naravni okužbi v nasadih.

Carraro s sod. (2004) je proučeval občutljivost za okužbo s fitoplazmo ESFY pri različnih vrstah iz roda *Prunus* s prenašalcem *Cacopsylla pruni*, kakor tudi s prenosom s cepljenjem. Poskusi ugotavljanja prenosa ESFY so bili izvedeni v kontroliranih razmerah v rastlinjaku na enoletnih sadikih 12 različnih vrst rodu *Prunus*, ki so bile mikrorazmnožene, zdrave ter so bile cepljene s cepiči iz okuženih rastlin. Rezultati poskusa so potrdili visoko stopnjo občutljivosti pri vrstah *P. armeniaca* in *P. salicina*, pri katerih je bilo 90% rastlin okuženih s fitoplazmo (testiranih z metodo verižne reakcije s polimerazo - PCR) ter so imele vse okužene rastline značilna, izrazita bolezenska znamenja in so propadle. Podobno sta tudi Kison in Seemüller (2001) proučevala občutljivost podlag na okužbo z ESFY s prenosom fitoplazme s cepljenjem pri 23 različnih podlagah iz roda *Prunus*. Uporabljeni so bili različno virulentni sevi iz okuženih rastlin mandlja, marelice, kitajsko-japonske slive in breskve, ki so bili cepljeni na zdrave podlage. Bolezenska znamenja so spremljali 5 – 8 let. Ugotovili so, da so se podlage zelo različno odzivale na okužbo z ESFY, saj je bilo odmiranje različno, pa tudi bolezenska znamenja so bila različno izražena. Drevesa na podlagah *P. domestica* (Ackermann's, Brompton, P 1275) in *P. cerasifera* Myrabi so bila najmanj prizadeta, saj je okužba pri njih najmanj vplivala. Nekoliko bolj so bila prizadeta drevesa na podlagah GF 677, GF 8/1 in *P. insititia* St. Julien A ter St. Julien GF 655/2. Za najbolj občutljive, z največjim odmiranjem so se pokazale breskove podlage Montclar, Rutgers Red Leaf, Rubira, breskov sejaneč, sejaneč marelice in *P. insititia* St. Julien 2. Med temi se je največja občutljivost pokazala pri kombinaciji, kjer je bil sejaneč marelice cepljen s cepičem, ki je izhajal iz okuženega drevesa marelice.

Jarausch s sod. (2000) je proučeval občutljivost na okužbo z ESFY pri 16 različnih sortah slive *P. domestica* in sicer pri 5 novejših sortah iz skupine Prune d'Ente in 11 sortah ali klonih iz skupine zelenih renklod (Reine Claude), ki izhajajo iz žlahtniteljskega programa na inštitutu INRA v Franciji. Vse sorte oziroma kloni so bili cepljeni na zdravo podlago *P. 'Marianna'* GF 8/1. Sadike so bile septembra cepljene s cepiči, okuženimi z ESFY, ki so izhajali iz obolelih indikatorskih rastlin breskve sorte Higama. Vsa drevesa v poskusu so bila preverjena na okužbo s fitoplazmo ESFY z metodo verižne reakcije s polimerazo (PCR) ali z metodo barvanja DAPI (4',6-diamidino-2-fenylindole). Opazovanja bolezenskih znamenj in meritve rasti poganjkov ter pridelka so potekala 6 let. Ugotovljeno je bilo, da so novejšje sorte iz skupine Prune d'Ente (Primacotes, Tardicotes, Lorida, Spurdente) zmerno do zelo

občutljive na okužbo z ESFY, kar se je pokazalo z izražanjem tipičnih bolezenskih znamenj, kot je rast izven rastne dobe in zvijanje listov pri 54% – 100% drevesih po sortah ter da je bilo odmiranje dreves po sortah iz te skupine 19%. Tudi rast poganjkov je bila pri teh sortah statistično značilno manjša od rasti poganjkov pri zdravi kontroli. Sorte iz skupine Reine Claude so se pokazale za bistveno bolj tolerantne, saj je le majhen delež dreves pri samo dveh sortah kazal znamenja, kot je rast izven rastne dobe, preostala drevesa so bila brez bolezenskih znamenj. Odmiranja dreves ni bilo pri nobeni sorti iz te skupine. Pri vseh proučevanih sortah je bila z metodo PCR potrjena fitoplazma, ne glede na to ali so drevesa kazala bolezenska znamenja ali ne, pri dveh tipih iz skupine Reine Claude je bila fitoplazma potrjena le v podlagah.

3 NAVODILA ZA VREDNOTENJE TOLERANTNOSTI SORT IN TIPOV MARELICE NA OKUŽBO Z ESFY

Znano je, da je na nekaterih pridelovalnih območjih marelice v Sloveniji še nekaj domačih, lokalnih tipov oziroma avtohtonih sort marelice s kakovostnimi plodovi, ki so se uspeli ohraniti do danes. Uporaba tolerantnih rastlin bi lahko omogočila oziroma vzpodbudila pridelavo te, na okužbo z ESFY občutljive sadne vrste, predvsem v okoljih, kjer je bolezen razširjena. Primerjalno lahko poleg odbranih avtohtonih sort ali tipov vrednotimo občutljivost tudi nekaterih novejših sort marelic, ki se širijo v pridelavi.

Za proučevanje občutljivosti oziroma tolerantnosti sort ali tipov marelice uporabimo metodo prenosa fitoplazme ESFY s cepljenjem okuženih cepičev na zdrave rastline sort, ki jih želimo vrednotiti (inokulirane rastline). Poskus proučevanja občutljivosti oziroma tolerantnosti sort izvajamo v zavarovanem prostoru.

81

Vse sorte/tipe, ki jih želimo vrednotiti cepimo na zdravo podlago, ki je lahko sejanec marelice. V literaturi so navedbe, da se v ta namen uporablja tudi podlaga *P. 'Marianna'* GF 8/1, ki je križanec *P. cerasifera* x *P. munsoniana* (Jarausch *et al.*, 1999). Pomembno je, da je podlaga enaka za vse sorte, ki jih proučujemo v poskusu. Pred cepljenjem sort preverimo zdravstveno stanje dreves, od katerih pridobimo cepiče, da so brez ESFY.

Izvor inokuluma ESFY izhaja iz okuženega drevesa marelice, ki ga pred cepljenjem preverimo, da potrdimo fitoplazmo ESFY. Enoletne sadike sort/tipov v avgustu cepimo s tehniko ploščičaste okulacije (chip budding) s cepiči iz okuženega drevesa marelice. Za vsako sorto/tip uporabimo po 10 sadik, za izvedbo inokulacije cepimo vsako sadiko s 3 okuženimi cepiči. Dodatno so v poskusu še 3 sadike, ki so necepljene in služijo za kontrolo. Za preverjanje okuženosti oziroma uspešnega prenosa fitoplazme je potrebno vse rastline v poskusu testirati na fitoplazmo enkrat v času opazovanj z molekularnimi metodami. Za vzorčenje se lahko uporabi poganjek nadzemnega dela, vendar se v primeru negativnih rezultatov vzorči še korenine. Opazovanja bolezenskih znamenj potekajo najmanj 3 leta po inokulaciji.

Za vrednotenje občutljivosti/ tolerantnosti sort ali tipov na okužbo z ESFY se vsako leto v obdobju opazovanja beleži izražanje bolezenskih znamenj ter odmiranje rastlin v poskusu:

- beleži se izražanje bolezenskih znamenj, kot je zvijanje listnih robov navzgor vzporedno z glavno žilo, zgodnje rumenenje listov, predčasno odpadanje listov, predčasno odganjanje in listanje spomladi še pred cvetenjem, naknadno odganjanje terminalnih brstov pozno poleti ali v jeseni, cvetenje zunaj fenološkega obdobja za cvetenje, plodovi so drobnejši, nepravilno oblikovani, pri prerezu vidne nekroze floema, slabša rast dreves, odmiranje posameznih vej; beleži se število rastlin z bolezenskimi znamenji po posamezni sorti ali tipu;
- beleži se število rastlin po posamezni sorti ali tipu, ki odmre, propade;

- beleži se število rastlin po posamezni sorti ali tipu, ki so brez bolezenskih znamenj; če je prisotnost fitoplazme v rastlini potrjena, govorimo o tolerantnosti.

4 SKLEPI

V okoljih, kjer je infekcijski pritisk fitoplazme velik, zaradi razširjenosti gostiteljskih rastlin (predvsem divjih vrst iz rodu *Prunus*) ter prenašalcev bolezni, torej kjer je bolezen razširjena in ustaljena, lahko uporaba tolerantnih rastlin omogoči pridelavo občutljivih sadnih vrst, kot je marelica. Z izdelavo navodil za vrednotenje tolerantnosti sort in tipov marelice na okužbo z ESFY želimo prispevati k odbiri tolerantnejših sort/tipov za nadaljnje gojenje, ki lahko pomeni za pridelovalca bolj zanesljiv način pridelave in s tem vzpodbuditi povečano zanimanje za pridelavo marelice.

5 ZAHVALA

Delo, ki ga obravnava prispevek je potekalo v obdobju 2011/2012 v okviru CRP projekta št. V4-1102, 'Reševanje problematike ustaljenih karantenskih bolezni sadnih vrst *Prunus* spp. za ohranitev pridelave', s finančno podporo Javne agencije za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije ter Ministrstva za kmetijstvo in okolje, za kar se iskreno zahvaljujemo.

6 LITERATURA

- Ambrožič Turk, B., Fajt, N., Seljak, G., Veberič, R., Mehle, N., Boben, J., Dreo, T., Ravnikar, M. 2011. Occurrence of European stone fruit yellows (ESFY) in Slovenia – Possibilities of healthy mother plant cultivation in insect-proof net-houses. *Acta Horticulturae*, 917: 259-264.
- Audergon, J.M., Castelain, C., Morvan, G., Chastelliere, M.G. 1991. Behaviour of 150 apricot varieties after an apricot chlorotic leafroll inoculation. *Acta Horticulturae*, 293: 593-598.
- Carraro, L., Osler, R., Loi, N., Ermacora, P., Refatti, E. 1998. Transmission of European stone fruit yellows phytoplasma by *Cacopsylla pruni*. *Journal of Plant Pathology*, 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 Horticulturae*, 657: 449-453.
- Fialova, R., Navratil, M., Valova, P., Kocourek, F., Poncarova-Voračkova, Z., Lauterer, P. 2004. Epidemiology of European stone fruit yellows phytoplasma in the Czech Republic. *Acta Horticulturae*, 657: 483-487.
- Jarausch, W., Lansac, M., Dosba, F. 1999. Seasonal colonization pattern of European stone fruit yellows phytoplasmas in different *Prunus* species detected by specific PCR. *Journal of Phytopathology*, 147: 47-54.
- Jarausch, W., Eyquard, J.P., Lansac, M., Mohns, M., Dosba, F. 2000. Susceptibility and tolerance of new French *Prunus domestica* cultivars to European stone fruit yellows Phytoplasmas. *Journal of Phytopathology*, 148: 489-493.
- Jarausch, W., Jarausch-Werheim, B., Danet, J.L., Broquaire, J.M., Dosba, F., Saillard, C., Garnier, M. 2001. Detection and identification of European stone fruit yellows and other phytoplasmas in wild plants in the surroundings of apricot chlorotic leaf roll-affected orchards in southern France. *European Journal of Plant Pathology*, 107: 209-217.
- Kison, H., Seemüller, E. 2001. Differences in strain virulence of the European stone fruit yellows phytoplasma and susceptibility of stone fruit trees on various rootstocks to this pathogen. *Journal of Phytopathology*, 149: 533-541.
- Labonne, G., Lichou, J. 2004. Data on the life cycle of *Cacopsylla pruni*, Psyllidae vector of European stone fruit yellows (ESFY) phytoplasma, in France. *Acta Horticulturae*, 657: 465-470.
- Laimer Da Camara Machado, M., Paltrinieri, S., Hanzer, V., Arthofer, W., Strommer, S., Martini, M., Pondrelli, M., Bertaccini, A. 2001. Presence of European stone fruit yellows (ESFY or 16SrX-B) phytoplasmas in apricots in Austria. *Plant Pathology*, 50: 130-135.

- Marcone, C., Jarausch, B., Jarausch, W. 2010. Candidatus Phytoplasma prunorum, the causal agent of European stone fruit yellows: an overview. *Journal of Plant Pathology*, 92: 19-34.
- Mehle, N., Ravnikar, M., Seljak, G., Knapič, V., Dermastia, M. 2011. The most widespread phytoplasmas, vectors and measures for disease control in Slovenia. *Phytopathogenic Mollicutes*, 1(2): 65-76.
- Ramel, M.E., Gugerli, P. 2004. Epidemiological survey of European stone fruit yellows phytoplasma in two orchards in western Switzerland. *Acta Horticulturae*, 657: 459-463.

BAKTERIJSKI OŽIG AKTINIDIJE, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Takikawa, Ichikawa, Serizawa, Tsuyumu in Goto) – Psa, PRIHAJAJOČA NEVARNOST ZA SLOVENSKO SADJARSTVO

Matjaž JANČAR¹

KGZS Zavod-GO, Oddelek za varstvo rastlin, Nova Gorica

IZVLEČEK

Bakterijski ožig aktinidije in njen povzročitelj, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidia* - Psa, sta bila prvič opisana na Japonskem leta 1984. Bolezen je bila v Aziji zelo uničevalna, v Italiji pa dolgo (20 let) ni povzročala hudih izgub. Od leta 2008 naprej se v Italiji ponavljajo uničujoče in nenadne epidemije predvsem na rumenem kiviju v srednji Italiji, od leta 2009 pa tudi na sorti Hayward v vseh pridelovalnih območjih kivija v Italiji. V letu 2011 je bil Psa opažen tudi v pokrajini Furlaniji – Julijski krajini, v neposredni bližini naše zahodne meje. Tako lahko pojav bolezni pričakujemo tudi na območju Slovenije. Ker se bolezen prenaša tudi z okuženim sadilnim in razmnoževalnim materialom, obstaja nevarnost vnosa z okuženih območij v Italiji, kjer so donedavna pridelovali glavnino sadik aktinidije in cvetnega prahu za potrebe oprasha v EU. Aktinidija je sicer v Sloveniji manj pomembna sadna vrsta, ki je v obliki intenzivnih nasadov zasajena le na območju Primorske. V obliki posameznih rastlin raste v vrtovih in ohišnicah praktično na celotnem območju Slovenije. V letu 2012 na območju Slovenije ni bilo opaženih in niti potrjenih sumov okužb z bakterijskim ožigom aktinidije. V prispevku so opisani bolezenski znaki, ukrepi ob pojavu in možnosti za obvladovanje bolezni.

Ključne besede: *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, bakterijski ožig aktinidije, predstavitev škodljivega organizma

ABSTRACT

BACTERIAL CANCKER OF KIWI, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Takikawa, Ichikawa, Serizawa, Tsuyumu in Goto) – Psa, THE UPCOMING DANGER FOR SLOVENIAN FRUIT PRODUCTION

Bacterial canker of kiwi and his agent, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidia* - Psa was first described in Japan in 1984. The disease was very destructive in Asia, while in Italy for a long time (20 years) has not caused serious losses. From 2008 onwards, in Italy repeated devastating and sudden epidemics mainly in yellow kiwi in central Italy, from 2009, as well as the Hayward variety in all growing areas of kiwifruit in Italy. In 2011, the Psa was also observed in the region of Friuli - Venezia Giulia, in the immediate vicinity of our western border. You can expect the disease in Slovenia. Because the disease is transmitted by infected planting and propagating material, there is a risk of introduction of infected areas in Italy, where until recently the majority of seedlings and pollen for pollination of kiwi in the EU. Kiwi in Slovenia is less important fruit species, which is in the form of intensive crops planted only in the Primorska region. In the form of individual plants is present in gardens and croft virtually the entire territory of Slovenia. In 2012 in Slovenia had not been seen or confirmed suspected bacterial infections of Bacterial canker of kiwi. The article describes the symptoms, measures the occurrence and the potential for disease control.

¹ univ. dipl. inž. agr., Izpostava Koper, Ul. 15. Maja 17, SI-6000 Koper

Key words: *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, bacterial canker of kiwi, presentation of the pathogen

1 PODATKI O BOLEZNI

Vrsta ŠO: *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Takikawa, Ichikawa, Serizawa, Tsuyumu in Goto)

Paličaste gramnegativne aerobne bakterije

Taksonomska pripadnost: Proteobacteria, Pseudomonadaceae

Slovensko ime: bakterijski ožig aktinidije

Fitosanitarni status: EPPO A2 lista; v EU še ni uvrščen

2 IZVOR IN RAZŠIRJENOST BOLEZNI

Bakterijski ožig aktinidije in njen povzročitelj, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidia* (Psa), sta bila prvič opisana na Japonskem leta 1984 (Takikawa *et al.*, 1989). Bakterijo so kasneje našli tudi v Italiji in v Južni Koreji (Koh *et al.*, 1994; Scortichini, 1994), v vseh primerih so jo izolirali iz sorte Hayward. Bolezen je bila v Aziji zelo uničevalna, v Italiji pa dolgo (20 let) ni povzročala hudih izgub. Od leta 2008 naprej se v Italiji ponavljajo uničujoče in nenadne epidemije predvsem na rumenem kiviju v srednji Italiji, od leta 2009 pa tudi na sorti Hayward v vseh pridelovalnih območjih kivija v Italiji. V letu 2010 in 2011 so pojav omenjene bolezni potrdili tudi v Franciji, na Portugalskem, v Španiji, Švici in Turčiji. Hkrati so Psa opazili tudi v Čilu, na Novi Zelandiji in v Avstraliji. Trenutno se v različnih območjih sveta pojavljajo vsaj štiri genetske populacije bakterije.

V letu 2011 je bila v Italiji opažena že v sosednji Furlaniji – Julijski krajini, v neposredni bližini naše zahodne meje in tako lahko pojav bolezni pričakujemo tudi na območju Slovenije. Ker se bolezen prenaša tudi z okuženim sadilnim in razmnoževalnim materialom, obstaja nevarnost vnosa z okuženih območij v Italiji, kjer so donedavna pridelovali glavnino sadik aktinidije v EU.

Najnovejše stanje v Novi Zelandiji (21. februar 2013): v zadnjem tednu odkritih 21 novih okuženih nasadov, skupno do sedaj potrjenih 2073 nasadov v skupni površini 9649 ha, kar predstavlja skupno 70% okuženih nasadov.

3 STANJE AKTINIDIJE V SLOVENIJI

Aktinidija se je v Sloveniji pojavila po letu 1980, ko so bili posajeni prvi intenzivni nasadi. Po podatkih Statističnega urada Republike Slovenije je bilo pri zadnjem popisu sadovnjakov v letu 2007 v Sloveniji 5881 trsov aktinidije, kar znese bruto 8,7 ha in neto 7,5 ha intenzivnih sadnih nasadov. Vsi intenzivni nasadi aktinidije so zasajeni na zmerno toplih legah na območju spodnje Vipavske doline, Goriških Brd in Slovenske Istre. Močno prevladuje vrsta *A. deliciosa* s kultivarjem Hayward. V obliki ekstenzivnih nasadov oziroma posameznih trsov v vrtovih je aktinidija prisotna na celotnem območju Slovenije.

4 GOSTITELJSKE RASTLINE

Občutljive vrste aktinidij [Actinidaceae (= aktinidija)]: *Actinidia deliciosa*, *A. chinensis*, *A. arguta* in *A. kolomikta*.

Vrste in sorte aktinidij so različno občutljive na različne izolate (populacije) bakterij Psa. Rumeno mesnate vrste aktinidije *A. chinensis* kultivarja 'Hort 16A' in 'Jin Tao' sta bolj občutljiva za okužbo z nekaterimi izolati Psa kot zeleno mesnata *A. deliciosa* kultivar

'Hayward', vendar so v zadnjih letih tudi okužbe sorte Hayward pogoste in povezane z velikimi izgubami.

Med moškimi in ženskimi rastlinami ni opaziti razlik v občutljivosti na okužbo. Za okužbo so bolj dovzetni mladi nasadi (starosti do petih let) kot starejši nasadi.

5 BOLEZENSKA ZNAMENJA

- Najpogostejša in za širjenje bolezni najpomembnejša bolezenska znamenja so razjede na deblih in poganjkih; razjede običajno spremlja razbarvanje žilnega tkiva pod lubom.

- Bolezenska znamenja v obliki nekroz, madežev in razbarvanja žilnega tkiva se lahko pojavljajo na vseh nadzemnih delih aktinidij, poročali pa so tudi o razbarvanju žilnega tkiva v koreninah.

- Zgodaj spomladi, ob koncu jeseni ali ob začetku zime se iz razjed lahko izcejajo rastlinski sokovi in bakterijski izcedek.

- Zgodaj pomladi okuženi mladi poganjki nenadno ovenijo in se sušijo. Sušenju poganjkov navadno sledi postopno sušenje rozg in celih trsov.

- Tudi cvetni popki in cvetovi so lahko predmet okužbe s *Psa*. Popki porjavijo, odmirajo in kasneje odpadajo. Lahko je viden tudi bakterijski izcedek.

- Poleti se na deblu trsa pojavijo poškodbe lubja v obliki razpok (rakaste rane) iz katerih lahko izhaja bakterijski izcedek bele ali rdeče-rjave barve. Pod poškodovanim lubjem in ob prerezu debla opazimo rjavjenje prevodnega tkiva.

- Bolezenska znamenja na listih: najprej vodene poligonalne pege, ki preidejo v temno rjave pege nepravilnih oblik z nazobčanimi robovi.

- V primeru močnejše okužbe plodovi venejo, vendar v takšnih primerih ni nujno, da so bakterije *Psa* v plodovih tudi prisotne.

86

6 PODOBNA BOLEZENSKA ZNAMENJA

Podobna bolezenska znamenja lahko povzročata tudi bakteriji *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in *P. viridiflava*. Tudi slednji povzročata poškodbe prevodnega sistema in podobne simptome na vegetativnih organih rastline (cvetovi, cvetni popki, listi, plodovi, rozge in debla), a sta veliko manj virulentni.

Zgodaj pomladi bakterijskega izcedka vizuelno ni mogoče popolnoma zanesljivo razlikovati z izcedkom oranžne barve, ki ga tvorijo glivice. Ni izključeno, da se glivice razvijejo na izcedku, ki ga v osnovi povzročijo *Psa*. Glivice se sicer razvijejo na mestu soljenja trsa po opravljeni rezi.

7 NAČINI ŠIRJENJA

Bakterija se lokalno širi kapljično, s pomočjo vetra in dežja, prenašajo jo ptice in žuželke ter človek s svojo aktivnostjo pri okuženih rastlinah. Na večje razdalje jo lahko prenesemo z okuženimi cepiči, podlagami ali sadikami. *Psa* lahko okuži rastline prek celega leta. Bolezen se zlahka širi v nasadih in med nasadi.

K povečanju možnosti okužb pomembno prispevajo tudi nekatere agrotehnoške prakse, ki povzročajo nastanek manjših ali večjih ran, skozi katere vstopajo bakterije: zimska rez, privezovanje vej, namakalna cevka, ki drgne mlado deblo.

Primer izredne hitrosti širjenja *Psa* v Novi Zelandiji (<http://www.kvh.org.nz>, poročilo 21. februarja 2013)

- v zadnjem tednu odkritih 21 novih okuženih nasadov,

- do sedaj potrjenih 2073 okuženih nasadov na 9657 ha,
- kar predstavlja skupno kar 70% okuženih nasadov.

8 UKREPI ZA PREPREČEVANJE ŠIRJENJA IN MOŽNOSTI ZATIRANJA *PSA*

Glavna značilnost na vseh območjih pojava *Psa* je izredna hitrost širjenja bakterije v okuženih in okoliških nasadih tako rumeno mesnatih kakor tudi zeleno mesnatih vrst aktinidij.

Evropska komisija je 5. decembra 2012 sprejela izvedbeni sklep o ukrepih za preprečevanje vnosa bakterije *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Takikawa, Ichikawa, Serizawa, Tsuyumu in Goto) in njenega širjenja po Uniji. (2012/756/EU).

Povod za omenjen dokument je bilo obvestilo Italije o izredno agresivnem sevu *Psa* na njihovem ozemlju, zaradi katerega je sprejela uradne ukrepe za preprečitev nadaljnega vnosa in širjenja boleznin na svojem ozemlju. Informacije, ki so na voljo, kažejo tudi, da je nov agresiven sev navedenega organizma navzoč v tretji državi, ki v Unijo izvažata razmnoževalni material aktinidije, vključno s pelodom.

Glavni poudarki izvedbenega sklepa so:

- *Psa* se ne sme vnašati v Unijo in širiti po njej
- Kaljiv pelod in rastline za saditev iz rodu *Actinidia* Lindl., razen semen, s poreklom iz tretjih držav, se lahko v Unijo vnašajo samo, če so v skladu s posebnimi zahtevami iz Priloge I.
- Navedene rastline se znotraj Unije premeščajo samo z rastlinskim potnim listom in izpolnjujejo dodatne zahteve iz Priloge II.
- Članice Unije morajo na svojem ozemlju redno izvajati preglede na morebiten pojav *Psa* in o tem poročati. Ob morebitnem odkritju morajo o tem nemudoma obvestiti Evropsko komisijo.
- Članice Unije Komisijo nemudoma obvestijo o ukrepih, ki so jih sprejeli za uskladitev državne zakonodaje s tem sklepom.

Ta sklep se uporablja do 31. marca 2016.

Glede na to, da je bolezen v neposredni bližini naše zahodne meje je glavni namen in cilj posebnega nadzora **preprečitev vnosa** boleznin oziroma pravočasno odkrivanje morebitnih žarišč v Sloveniji, ki bi omogočili njeno izkoreninjenje.

Preventivni ukrepi v samem nasadu:

- Imetniki v nasadu redno pregledujejo trse na morebiten pojav bolezenskih znamenj. V primeru suma pokličejo strokovnjaka službe za varstvo rastlin na lokalnem kmetijsko gozdarskem zavodu ali inštitutu.
 - Informiranje javnosti in njeno vključevanje v odkrivanje morebitnih okužb z bakterijskim ožigom aktinidije. Za zgodnje odkrivanje je pomembno informiranje prek elektronskih in/ali tiskanih medijev o bolezenskih znamenjih okužbe.
- Največ ran in s tem odprtih za vstop bakterij v rastlino nastane pri rezi, zato je pomembno:
- Izvajanje rezi ob suhem vremenu
 - Sumljive trse označiti in rezati ločeno (obvezno razkuževanje orodja)
 - Poškodbe pri rezi premera ≥ 2 cm zaščititi s razkužilnimi pastami ali razkužiti z bakrovimi pripravki

Ostali ukrepi:

- uravnoteženo gnojenje – na minimum znižati gnojenje z dušikovimi gnojili,
- ustrezno in ne pretirano namakanje,
- previdnost pri umetnem opráševanju (možnosti prenosa *Psa* z opráševalci).

V primeru suma uradna oseba odvzame vzorec in ga pošlje na Nacionalni inštitut za biologijo, kjer z laboratorijsko analizo sum potrdijo ali ovrnejo.

Pri obvladovanju *Psa* potekajo številne raziskave z uporabo različnih sredstev, ki spodbujajo inducirano odpornost rastline. V ta namen uporabljajo listna gnojila (N, P, Fe, Mn, Zn), biostimulatorje (ekstrakti alg...) in bioregulatorje (huminske kisline, fulvinske kisline, fosforasta kislina...).

V Italiji priporočajo kot preventivni ukrep za preprečevanje širjenja okužb tretiranje z bakrovimi pripravki pred rezjo in po rezi ter v primeru izrednih vremenskih razmer (toča, neurja, pozeba).

Podatki o obvladovanju *Psa* so pridobljeni iz pisnih virov iz sosednje Italije in drugih pisnih virov.

9 SKLEPI

V letu 2012 na območju Slovenije ni bilo opaženih in niti potrjenih sumov okužb z bakterijskim ožigom aktinidije. Skupno je bilo opravljenih 18 pregledov: 6 v drevesnicah, 8 v intenzivnih nasadih, 3 v matičnjakih, eden v vrtnu.

V Republiki Sloveniji trenutno ni registrirano nobeno fitofarmacevtsko sredstvo za uporabo na aktinidiji.

10 LITERATURA

- Armentano, G., Andreotti, L. 2010. Numeri e diffusione in Italia del cancro batterico del kiwi. L'informatore agrario, 45: 42-43.
- Balestra, G.M., Mazzaglia, A., Quattrucci, A., Renzi, M., Rossetti, A., Ricci L. 2009. Cresce la diffusione in Italia del cancro batterico dell'actinidia. L'informatore agrario, 24: 58-60.
- Balestra, G.M., Mazzaglia, A., Quattrucci, A., Spinelli, R., Graziani, S., Rossetti, A. 2008. Cancro batterico su *Actinidia chinensis*. L'informatore agrario, 28: 75-76.
- Fratarcangeli, L., Rossetti, A., Mazzaglia, A., Balestra, G.M. 2010. Il ruolo del rame nella lotta al cancro batterico del kiwi. L'informatore agrario, 10: 64-65.
- Gallelli, A., Talocci, S., L'Aurora, A. and Loreti, S. 2011b. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, causal agent of bacterial canker of kiwifruit, from symptomless fruits, and twigs, and from pollen. Phytopathol. Medit. 50: 473-483.
- Jančar, M. 2012. Poročilo o posebnem nadzoru bakterijskega ožiga aktinidije (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* [Takikawa *et al.*, 1989]) – *Psa* v Sloveniji za leto 2012.
- Jančar, M., Orešek, E., Dreo, T., Pirc, M., Benko Beloglavec, A. 2013. Program posebnega nadzora bakterijskega ožiga aktinidije (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* [Takikawa *et al.*, 1989]) – *Psa* v Sloveniji za leto 2012.
- Mazzaglia, A., Renzi, M., Taratufolo, C., Rossetti, A., Balestra, G.M. 2011. Tecniche di campo e nutrizione contro il cancro del kiwi. L'informatore agrario, 10: 64-65.
- Quattrucci, A., Renzi, M., Rossetti, A., Ricci, L., Taratufolo, C., Mazzaglia, A., Balestra, G.M. 2010. Cancro batterico del kiwi verde: nuove strategie di controllo. L'informatore agrario, 16: 53-57.
- Scorhiccini, M., Ferrante, P., Marcelletti, S., Fiorillo E., D'Alessio, A., Marocchi, F., Mastroaleo, M., Simeoni, S., Nastri, A. 2011. Cancro del kiwi: tecniche di controllo a confronto. L'informatore agrario, 18: 38-42.
- Stefani, E. and Giovanardi, D. 2011. Dissemination of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* through pollen and its epiphytic life on leaves and fruits. Phytopathol. Medit. 50, 501-505.
- Štampar, F. 2000. Kiwi pridelovanje in uporaba, Založba Kmečki glas.
- Štampar, F. *et al.* 2005. Sadjarstvo, Založba Kmečki glas.
- Takikawa, Y., Serizawa, S., Ichikawa, T., Tsuyumu, S. and Goto, M. 1989. *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* pv. nov.: the causal bacterium of canker of kiwifruit in Japan. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 55: 437-444.
- Vitone, G., Nari, L., Morone, C. 2011. Come affrontare in campo la batterisi del kiwi. L'informatore agrario, 18: 46-47.

PREUČEVANJE BIONOMIJE ČEŠPLJEVE BOLŠICE (*Cacopsylla pruni*) NA PRIMORSKEM

Gabrijel SELJAK¹, Mojca ROT²

KGZS, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica, Oddelek za varstvo rastlin, Nova Gorica

IZVLEČEK

V letu 2012 smo na območju Primorske preučevali bionomijo češpljeve bolšice - *Cacopsylla pruni* (Scopoli) (Hemiptera, Sternorrhyncha, Psyllidae) z namenom boljšega poznavanja njene biologije in vloge pri epifitotičnem širjenju leptonekroze koščičarjev (European stone fruit yellows) v zadnjih dveh desetletjih. Na vseh opazovanih lokacijah je bila ugotovljena razmeroma številčna populacija na primarnih gostiteljih iz rodu *Prunus*. Na Goriškem so se imaga pojavljala na primarnih gostiteljih od konca februarja do konca junija. Prezimitvena imaga so se na primarnih gostiteljih pojavljala vse do sredine maja, ko so se že pojavili prvi odrasli osebki nove generacije. Razvoj posameznih razvojnih stadijev češpljeve bolšice je v tesni povezavi s fenološkimi fazami gostiteljev. Največja številčnost zimskih imagov in paritvena aktivnost je bila zabeležena v času okoli cvetenja črnega trna in sliv. Zaradi te sinhronosti je razvoj češpljeve bolšice v Brkinih zaostajal za Goriško za skoraj tri tedne.

Ključne besede: *Cacopsylla pruni*, bionomija, Primorska, Slovenija

89

ABSTRACT

STUDY OF BIONOMICS OF *Cacopsylla pruni* IN THE PRIMORSKA REGION

A study of *Cacopsylla pruni* (Scopoli) (Hemiptera, Sternorrhyncha, Psyllidae) was conducted in the Primorska region (western Slovenia) in 2012 with the aim to improve the knowledge on its biologic characteristics and the role in epiphytotic spread of European stone fruit yellows in the previous two decades. The presence of the insect on the primary hosts (*Prunus* spp.) was detected in a fairly consistent number in all observed locations. In Goriška region the presence of adults was observed within the period from the end of February to the end of June. Winter reimmigrants persisted on primary hosts till mid May, when the first summer adults appeared. Development stages of the insect strongly correlate with the growth stages of its host plants. The highest population rate and mating activity of winter reimmigrants was observed around the blossoming time of *Prunus spinosa* and *P. domestica*. As the consequence of this synchrony, a clear development delay of *C. pruni* for almost three weeks was established in Brkini region in comparison with Goriška region.

Key words: *Cacopsylla pruni*, bionomics, Primorska region, Slovenia

1 UVOD

Leptonekroza koščičarjev - European stone fruit yellows (ESFY), ki jo povzroča fitoplazma '*Candidatus* Phytoplasma prunorum' je postala ena najpomembnejših bolezni koščičastega sadja na Primorskem pa tudi drugod po Sloveniji (Seljak & Petrovič, 2000; Seljak & Petrovič, 2001; Brzin & al., 2005; Mehle & al., 2007; Ambrožič & al., 2008). Poleg neposredne gospodarske škode, ki nastane zaradi hitrega propadanja okuženih dreves in izgube pridelka

¹ mag., univ. dipl. inž. agr., Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

že po prvem letu okužbe, povzročča veliko težav tudi pri vzdrževanju zdravih matičnih dreves za rez cepičev (Ambrožič & al., 2008; Fajt & al., 2009; Ambrožič & al., 2011). Stanje je kritično zlasti pri breskvah, nektarinah, marelicah in slivah kitajsko-japonskega izvora, ki so na splošno zelo občutljive na to bolezen. Črni trn (*Prunus spinosa* L.) in evropska češplja oz. sliva (*P. domestica* L.), ki sta tolerantna na ESFY, sta najpomembnejši naravni vir infekcijskega potenciala za širjenje ESFY. Ti dve vrsti sta hkrati tudi najbolj privlačni gostiteljski rastlini za češpljevo bolšico (*Cacopsylla pruni*), ki je najpomembnejši naravni prenašalec fitoplazme ESFY (Carraro & al., 1998; Jarausch & al., 2001). Temeljito poznavanje bionomije in etologije češpljeve bolšice je zato ključnega pomena za razumevanje pojava in širjenja ESFY v naravnem okolju, za preprečevanje ali omejevanje njenega širjenja v nasadih koščičastega sadja, zlasti v objektih za pridelovanje sadilnega materiala in za določanje najustreznejšega roka in načina morebitnega zatiranja. Prav zaradi tega se preučevanju fenologije češpljeve bolšice v zadnjih nekaj letih posveča veliko pozornosti v različnih okoljih, npr. v južni Franciji (Labonne & Lichou, 2004; Thébaud & al. 2009), v Italiji (Carraro & al. 2004, Ermacora & al. 2011), na Češkem (Fialova & al., 2007), v Srbiji (Tanasković & al., 2009) idr. V razmerah Primorske in tudi vse Slovenije je bila bionomija znana zgolj v grobih obrisih. Celovita dinamika pojavljanja, migracije s prezimitvenih rastlin na primarne gostitelje in selitve nove generacije nazaj na prezimitvene rastline pa zelo slabo. Prav tako je slabo poznano obnašanje in razvojna dinamika preimaginalnih stadijev.

2 MATERIAL IN METODE DE LA

Preučevanje bionomije češpljeve bolšice se izvaja v okviru CRP projekta V4-1102 "Reševanje problematike ustaljenih karantenskih bolezni sadnih vrst *Prunus* spp. za ohranitev pridelave". Projekt še ni končan, zato so v tem prispevku obdelane le preliminarne ugotovitve enoletne raziskave. V okviru te raziskave so bili postavljeni naslednji ključni cilji:

- ugotoviti čas in dinamiko naleta prezimitvene populacije na primarne gostitelje iz rodu *Prunus*,
- ugotoviti razvoj fertlnosti prezimitvenih imagov in razvojno dinamiko preimaginalnih razvojnih stopenj;
- ugotoviti čas in trajanje migracije poletnih imagov nazaj na prezimitvene rastline;
- izdelava celovite dokumentacije o razvojnih stopnjah češpljeve bolšice, zlasti preimaginalnih stadijev;
- z vzorčenjem in laboratorijskimi testi ugotavljati stopnjo okuženosti prezimitvenih in poletnih imaga s fitoplazmo '*Candidatus* Phytoplasma prunorum'.
- ugotoviti zastopnost morebitnih drugih potencialnih prenašalcev fitoplazme ESFY.

Nalet in velikost populacije prezimitvene populacije češpljeve bolšice smo spremljali na štirih izbranih lokacijah, v Kromberku pri Novi Gorici na domači češplji, v Lokah pri Novi Gorici na črnem trnu ter v Zavrhu in Preložah v Brkinih na domači češplji. Pri tem smo uporabljali metodo lova na rumene lepljive plošče in lov z entomološko mrežo ali otresanje imaga na entomološko ponjavo. V Brkinih smo populacijsko dinamiko tedensko spremljali le na rumenih lepljivih ploščah in opravili eno vzorčenje imagov v aprilu 2012.

Na obeh lokacijah pri Novi Gorici smo poleg ulova imagov na lepljive rumene plošče tedensko lovili imaga tudi z entomološko mrežo in na začetku ulova v laboratoriju ugotavljali zrelost ovarijev samic z disekcijo zadka pod stereomikroskopom. Preostanke tako ulovljenih bolšic smo shranili v 96% etanolu in so bili uporabljeni kot vzorci za laboratorijsko testiranje okuženosti s fitoplazmo '*Candidatus* Phytoplasma prunorum'. Skupaj je bilo nabranih pet takšnih vzorcev.

Hkrati smo tedensko vzorčili vejice oz. poganjke gostiteljskih rastlin (domača češplja in črni trn) in v laboratoriju pod stereomikroskopom ugotavljali pojavljanje in razmerja posameznih

razvojnih stadijev češpljeve bolšice. Po ustaljenih entomoloških preparacijskih postopkih so bili izdelani trajni preparati vseh razvojnih stopenj češpljeve bolšice, razen jajčec. Shranjeni so v entomološki zbirki Kmetijsko gozdarskega zavoda v Novi Gorici. Vse razvojne stopnje češpljeve bolšice so bile tudi fotografsko dokumentirane.

3 REZULTATI

Ta prispevek obravnava samo ugotovitve, ki se nanašajo na bionomijo češpljeve bolšice, ne pa tudi rezultate testiranja okuženosti vzorcev češpljeve bolšice s fitoplazmo '*Candidatus Phytoplasma prunorum*'.

3.1 Dinamika naleta prezimitvene generacije češpljeve bolšice na primarne gostitelje

Na vseh opazovanih mestih je bila zabeležena češpljeva bolšica. Začetki naleta prezimitvenega rodu na primarne gostitelje *Prunus* spp. so po lokacijah zelo različni. V okolici Nove Gorice so se prvi osebki ulovili na rumene plošče že v zadnji dekadi februarja in dosegli višek konec marca. V Brkinih so bili prvi ulovi zabeleženi tri tedne ali celo en mesec pozneje z viškom v prvi dekadi aprila. V vseh primerih je bil najmočnejši ulov v fenoloških fazah med odpiranjem cvetnih brstov in polnim cvetenjem (BBCH 09-11 oz. 55-65). V tej fazi je bilo tudi najbolj intenzivno parjenje. Zadnji osebki prezimitvene oblike so se pojavljali do sredine maja, pri čemer so bile na koncu samo še samice. Grafični prikaz dinamike pojavljanja prezimitvene oblike češpljeve bolšice je prikazana na slikah 1 in 2.

3.2 Dinamika razvoja mladostnih stopenj češpljeve bolšice na primarnih gostiteljih v l. 2012

Po naselitvi na primarnih gostiteljih se odrasli osebki intenzivno prehranjujejo na nabrekajočih brstih in nato na poganjkih. V začetku, ko še ni dovolj zelenih delov, se zgodnji osebki prehranjujejo tudi na olesenelih enoletnih šibah. Z dissekcijo zadkov samic in zastopanostjo jajčec v ovarijih smo ugotavljali njihovo spolno zrelost. V začetku naleta v ovarijih samic nismo našli jajčec. Ta so se pojavila šele po približno dveh tednih po prvem naletu na primarne gostitelje. Dopolnilno prehranjevanje na primarnih gostiteljih je očitno pogoj, da osebki spolno dozori. Prva odložena jajčeca smo našli šele po 3-4 tednih po prvem naletu odraslih osebkov na primarne gostitelje. Samice najpogosteje odlagajo jajčeca na spodnjo stran listov vzdolž glavne listne žile, najraje med dlačice v žilnih pazduhah. Jajčeca so odložena posamič ali v manjših gručah do 10 v skupini. Mlada jajčeca so bleščeče rumenkasto bela z značilnim v stran obrnjenim nitastim priveskom na vrhu. V teku embrionalnega razvoja postajajo vedno bolj rumena do oranžno rumena.

Trajanje embrionalnega razvoja je zelo odvisno od vremenskih razmer, zlasti temperature. V opazovanih objektih na Goriškem so se prve ličinke pojavile dobra dva tedna po prvih odloženih jajčecih. Toplo vreme v zadnji dekadi aprila je zelo pospešilo razvoj larvalnih stadijev. Potreben čas za razvoj posameznih larvalnih stadijev ni enak, pač pa kaže, da je ta daljši za nižje in krajši za višje larvalne stadije. Natančneje tega v nadzorovanih razmerah nismo raziskovali. Ličinke prvega razvojnega stadija (L1) se večinoma prehranjujejo na mestu, kjer se izležejo, ob glavnih žilah na spodnji strani listov. Osebki drugega larvalnega stadija (L2), se začnejo razseljevati in jih pogosto najdemo v večjem številu med razvijajočimi se listi na vrhu bujnejših poganjkov. Nimfe L3, L4 in L5 se večinoma zadržujejo v pazduhah listnih pecljev sesajoč sokove iz stebel mladih poganjkov. Prvi imaga novega rodu so se pojavili v začetku zadnje dekade maja, zadnje pa smo našli pri otresanju gostiteljskih rastlin na entomološko ponjavo oziroma mrežo 21. junija. Dinamika pojavljanja

in razvoja posameznih razvojnih stadijev češpljeve bolšice v l. 2012 je prikazana v preglednici 1 in na sliki 1.

Preglednica 1: Začetek pojavljanja posameznih razvojnih stadijev češpljeve bolšice v letu 2012 na primarnih gostiteljih.

Table 1: The onset of single developmental stages of *C. pruni* on the primary hosts in 2012.

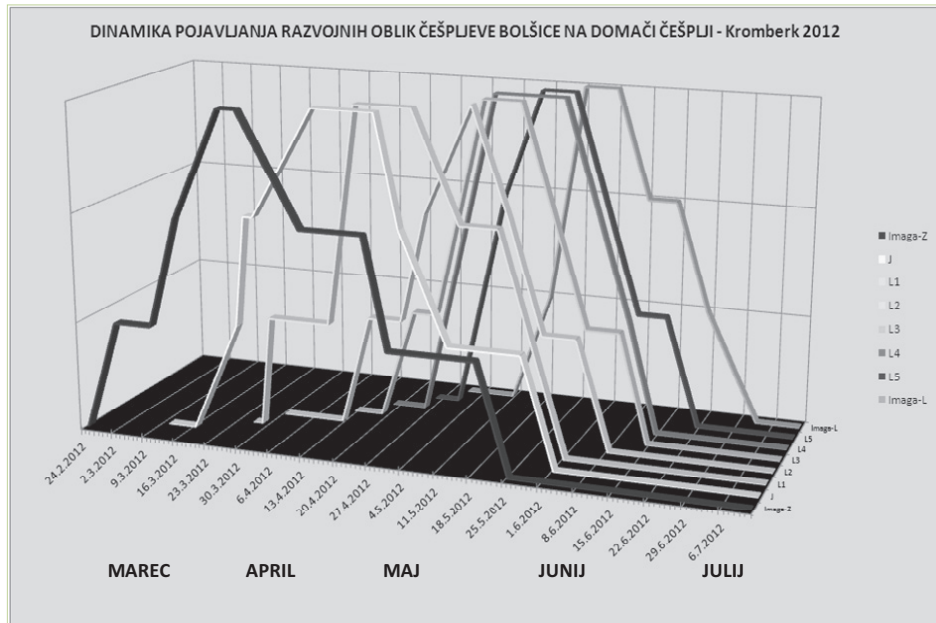
Lokacija/ Location	Zimski imaga/ Reimigrants	Fenol. faza/ Growth stage (BBCH)*	Prva jajčeca/ First eggs	L1	L2	L3	L4	L5	Poletni imaga/ Summer adults	Zadnji poletni imaga/ Last summer adults
Kromberk	2.3.2012	<i>P. d.</i> 03	26.3.2012	30.3.2012	18.4.2012	25.4.2012	30.4.2012	-	18.5.2012	21.6.2012
Loke	24.2.2012	<i>P. s.</i> 01	26.3.2012	12.4.2012	25.4.2012	30.4.2012	30.4.2012	30.4.2012	25.5.2012	21.6.2012
Zavrhek	19.3.2012	<i>P. d.</i> 01	-	-	-	-	-	-	-	-
Prelože	20.3.2012	<i>P. d.</i> 03	-	-	-	-	-	-	-	-

* *P. d.* - *Prunus domestica*; *P. s.* - *P. spinosa*.

4 RAZPRAVA

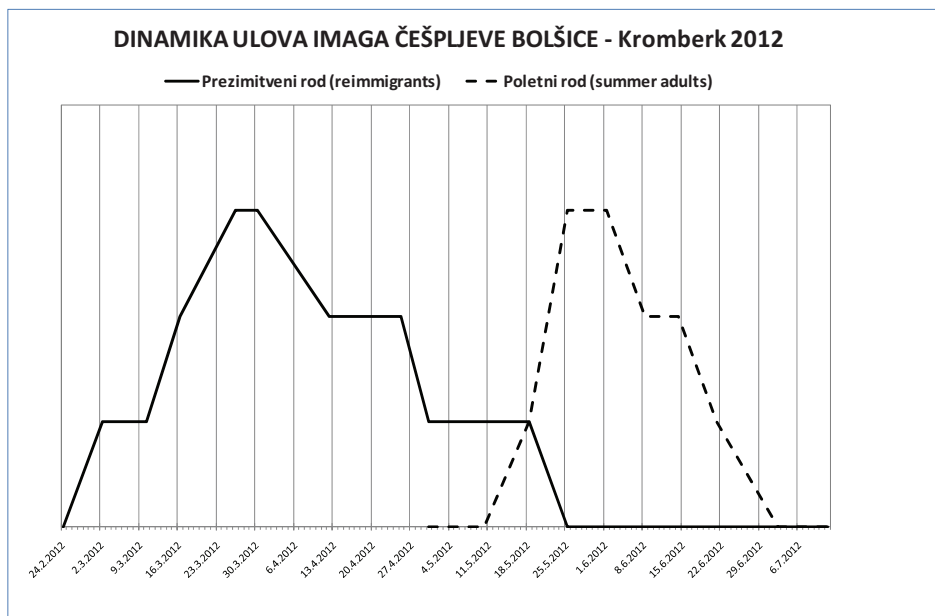
Ena ključnih ugotovitev je sorazmerno velika dolgoživost prezimitvenih osebkov na primarnih gostiteljih, od prvih osebkov konec februarja do zadnjih v sredini maja na Goriškem, v Brkinih pa od sredine marca do konca maja. Zadnje, sicer redke osebkve zimske oblike smo našli v času, ko so se že pojavili tudi prvi odrasli osebkovi nove, poletne generacije. Imaga poletne generacije se le nekaj dni prehranjujejo na listih in poganjkih, toliko da jim krila otrdijo, nato pa zapustijo primarne gostitelje in se preselijo na prezimitvene rastline (smreka, jelka in bori). Po raziskavah na Moravskem naj bi se novo izlegli imaga na primarnih gostiteljih zadrževali le kak teden (Čermák & Lauterer, 2008). Hitra preselitev poletnih imaga na prezimitvene gostitelje je preživitvenega pomena, saj v ujetništvu na primarnih gostiteljih preživijo največ dva tedna (Lauterer, os. kom.)

92



Slika 1: Dinamika pojavljanja razvojnih oblik češpljeve bolšice (*C. pruni*) na domači češplji - Kromberk 2012

Figure 1: Instars' development dynamics of *C. pruni* on common plum trees - Kromberk 2012



Slika 2: Dinamika ulova prezimitvene in poletne oblike češpljeve bolšice na domači češplji v letu 2012
Figure 2: Capture dynamics of winter (reimmigrants) and summer forms of *C. pruni* on common plum trees in 2012

93

Po naselitvi na primarnih gostiteljih je migracija zimskih imaga razmeroma skromna in v veliki meri odvisna tudi od vremenskih razmer. Češpljeva bolšica je slab letalec, zato aktivno preleta le krajše razdalje. Je pa odličen jadralec, zato jih zračni tokovi lahko prenašajo tudi na daljše razdalje. To je zlasti pomembno za poletno selitev s primarnih gostiteljev na prezimitvene rastline in obratno pot spomladi na primarne gostitelje. Poletna selitev na večje razdalje je vezana predvsem na poletno termiko, ki osebkje dvigne v višave in odloži v zavetrju bližnjih hribov in gora. Obratno jih hladni spomladanski pobočni tokovi odnašajo z višjih leg na primarne gostitelje v nižjih legah (Čermák & Lauterer, 2008). Tako orografske značilnosti kot tudi struktura naravne vegetacije in sadovnjakov koščičastega sadja so v Vipavski dolini kakor tudi v Brkinih izjemno ugodni za razvoj češpljeve bolšice. Hitro širjenje in obseg pojava ESFY na teh območjih si je mogoče razložiti prav s temi lastnostmi območja. V primeru Vipavske doline nudijo iglasti gozdovi Trnovskega gozda ugodne razmere za prezimovanje češpljeve bolšice, v dolini pa je obilica naravnih in gojenih primarnih gostiteljev, kjer se ta obilno razmnožuje. V Brkinih na istih območjih rastejo tako primarni gostitelji češpljeve bolšice (zlasti slive in češplje) kot tudi njene prezimitvene rastline (smreka, jelka, bori). Preseljevanje je zato enostavno in tudi učinkovito.

Zelo dolgo zadrževanje in prehranjevanje imaga in ličink na gostiteljskih rastlinah iz rodu *Prunus*, ki traja vsaj 2 meseca in pol, je več kot zadosti dolgo obdobje za uspešno akvizicijo in prenos 'Candidatus Phytoplasma prunorum' z okuženih na neokužene gostiteljske rastline. Po nekaterih raziskavah je pri češpljevi bolšici možen tudi transovarialni prenos fitoplazme 'Candidatus Phytoplasma prunorum' z okuženih samic na potomstvo (Tedeschi & al., 2006). Preverjanje tega je v naših klimatskih razmerah še v teku.

Kot najbolj privlačne gostiteljske rastline iz rodu *Prunus* za češpljevo bolšico so (vrstni red glede na preference): črni trn (*Prunus spinosa*), mirabolana (*P. cerasifera*), sliva (*P. domestica*), cibora (*P. instititia*), kitajsko-japonske slive (*P. salicina*), marelica (*P.*

armeniaca), breskev (*P. persica*). Skromna preferenca češpljeve bolšice za breskev poraja dvom, da je to edini naravni prenašalec fitoplazme '*Candidatus Phytoplasma prunorum*' pri tej sadni vrsti. Obstaja sum, da bi to morda lahko bil breskov škržatek (*Asymmetrasca decedens*), vendar eksperimentalno to še ni potrjeno (Pastore & al., 2004). Laboratorijska analiza vzorcev tega škržatka iz zelo okuženega nasada breskev v Orehovljah v jeseni 2012 je razkrila visoko stopnjo okuženosti s to fitoplazmo.

5 SKLEPI

Na podlagi enoletnega preučevanja bionomije češpljeve bolšice v razmerah Vipavske doline ugotavljamo, da je njena dinamika pojavljanja in razvoja enaka ali zelo podobna kot v podobnih razmerah južne Francije (Labonne & Lichou, 2004) in Severne Italije (Carraro & al., 2004, Ermacora & al., 2011). Morebitne sezonske zamike bo mogoče določiti šele po večletnem spremljanju. Na primarnih gostiteljih iz rodu *Prunus* se pojavlja od konca februarja in do konca junija, pri čemer so lahko zadnji osebki prezimitvene oblike navzoče tudi še tedaj, ko se razvijejo prvi imaga novega rodu. V vsem tem relativno dolgem obdobju je verjetnost za prenos fitoplazme '*Candidatus Phytoplasma prunorum*' z okuženih na zdrave rastline zelo velika. Verjetnost prenosa je seveda tem večja, čim večja je stopnja okuženosti prezimitvene populacije češpljeve bolšice, odvisna pa je tudi od pogostnosti virov okužbe in intenzivnosti migracije odraslih bolšic v času zadrževanja na primarnih gostiteljih. Migracija larvalnih stadijev je zelo omejena, v glavnem le na dele krošnje istega drevesa, zato je njihova vloga v epidemiologiji ESFY verjetno zelo majhna.

6 ZAHVALA

Ta raziskava se izvaja v okviru projekta CRP V4-1102 "Reševanje problematike ustaljenih karantenskih bolezni sadnih vrst *Prunus* spp. za ohranitev pridelave", ki jo financirata MKO in ARRS. Posebno zahvalo si zaslužita tudi Danijela Vovk in Aleks Dariž iz Kmetijske svetovalne službe, ki sta potrpežljivo obnavljala in pošiljala rumene lepljive pasti v Brkinih in s tem omogočila širši vpogled v življenje češpljeve bolšice na Primorskem.

7 LITERATURA

- Ambrožič Turk, B., Mehle, N., Ravnikar, M., Fajt, N., Seljak, G., Stopar, M., Veberič, R., 2008. Možnosti gojenja zdravih matičnih rastlin koščičarjev ob infekcijskem pritisku fitoplazme ESFY. V: Hudina, M. (ur.). *Zbornik referatov 2. Slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško, 31. 1. - 2. 2. 2008*. Ljubljana: 381-385.
- Ambrožič Turk, B., Fajt, N., Seljak, G., Veberič, R., Mehle, N., Boben, J., Dreo, T., Ravnikar, M 2011. Occurrence of European stone fruit yellows (ESFY) in Slovenia - possibilities for healthy mother plant cultivation in insect-proof net-houses. V: Kahane, R. (ur.). *Acta horticulturae*, No. 917: 259-264.
- Brzin, J., Petrovič, N., Boben, J., Hren, M., Kogovšek, P., Mehle, N., Žežlina, I., Seljak, G. and Ravnikar, M. 2005: Fitoplazme na sadnem drevju. V: Vajs, Stanislav (ur.), Lešnik, Mario (ur.). *Zbornik predavanj in referatov 7. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Zreče 8. do 10. marca 2005*. Maribor: Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2005, str. 248-252.
- Carraro L., Osler R., Loi N., Ermacora P., Refatti E., 1998. Transmission of the European stone fruit yellows phytoplasma by *Cacopsylla pruni*.- *Journal of Plant Pathology*, 80(3): 233-239.
- Carraro L., Ferrini F., Ermacora P., Loi N., 2002. Role of wild *Prunus* species in the epidemiology of European stonefruit yellows.- *Plant Pathology*, 51: 513-517.
- Carraro, L., Ferrini F., Labonne G., Ermacora P., Loi N., 2004. Seasonal infectivity of *Cacopsylla pruni*, vector of European stone fruit yellows phytoplasma.- *Annals of Applied Biology*, 144: 191-195.
- Čermák, V., Lauterer, P. 2008: Overwintering of psyllids in South Moravia (Czech Republic) with respect to the vectors of the apple proliferation cluster phytoplasmas.- *Bulletin of Insectology*, 61(1): 147-148.

- Ermacora, P., Ferrini, F., Loi, N., Martini, M., Osler, R. 2011: Population dynamics of *Cacopsylla pruni* and '*Candidatus* Phytoplasma prunorum' infection in North-Eastern Italy. *Bulletin of Insectology* 64 (Supplement): S143-144.
- Fajt, N., G. Seljak, M. Prinčič, E. Komel, R. Veberič, Robert, N. Mehle, J. Boben, T. Dreo, M. Ravnikar, B. Ambrožič Turk, 2009. Zagotavljanje zdravega izhodišnega materiala koščičarjev z vzgojo matičnih dreves v mrežniku. V: Maček, Jože (ur.). *Zbornik predavanj in referatov 9. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Nova Gorica, 4.-5. marec 2009*. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2009: 243-247.
- Fialová, R., Navrátil, M., Lauterer, P., Navrkalová, V. 2007. '*Candidatus* Phytoplasma prunorum': the phytoplasma infection of *Cacopsylla pruni* from apricot orchards and from overwintering habitats in Moravia (Czech Republic). *Bulletin of Insectology* 60 (2): 183-184.
- Jarausch W, Danet JL, Labonne G, Dosba F, Broquaire JM, Saillard C, Garnier M, 2001. Mapping the spread of apricot chlorotic leaf roll (ACLR) in southern France and implication of *Cacopsylla pruni* as a vector of European stone fruit yellows (ESFY) phytoplasmas. *Plant Pathology* 50, 782–790.
- Labonne, G., Lichou, J. 2004: Data on the Life Cycle of *Cacopsylla pruni*, Psyllidae Vector of European Stone Fruit Yellows (ESFY) Phytoplasma, in France. Proc. XIXth IS on Fruit Tree Virus Diseases. Ured. G. Llácer, Acta Hort. 657, ISHS 2004, 465-470.
- Mehle, N., Brzin, J., Boben, J., Hren, M., Frank, J., Petrovič, N., Gruden, K., Dreo, T., Žezlina, I., Seljak, G. and Ravnikar, M. 2007: Pregled rezultatov določanja fitoplazem na koščičarjih v letih 2000-2006 v Sloveniji. V: Maček, J. (ur.). *Zbornik predavanj in referatov 8. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 6.-7. marec 2007*: 139-143.
- Pastore, M., Raffone, E., Santonastaso, M., Priore, R., Paltrinieri, S., Bertaccini, A. and 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.
- Seljak G., N. Petrovič 2000: Diffusione e stato della ricerca delle malattie da fitoplasmii in Slovenia. *Petria* 10(2): 133-139.
- Seljak G., Petrovič N. 2001: Pregled razširjenosti in stanje raziskanosti fitoplazmatskih bolezni vinske trte in sadnega drevja v Sloveniji. *Sodobno kmetijstvo*, 34 (11-12), 466-471.
- Tanasković, S., Almaši, R., Balaž, J. 2009: Šljivina lisna buva (*Cacopsylla pruni* Scopoli) - manje poznata štetočina šljive u Srbiji. *Biljni lekar*, vol. 37 (4): 367-372.
- Tedeschi R., Ferrato V., Rossi J., Alma A. 2006: Possible phytoplasma transovarial transmission in the psyllids *Cacopsylla melanoneura* and *Cacopsylla pruni*. *Plant Pathology* 55: 18–24.
- Thébaud G., Yvon M., Alary R., Sauvion N., Labonne G. 2009. Efficient transmission of '*Candidatus* Phytoplasma prunorum' is delayed by eight months due to a long latency in its host-alternating vector. *Phytopathology*, 99: 265-273.

NAPOVEDOVANJE RAZVOJA AMERIŠKEGA KAPARJA (*Diaspidiotus perniciosus* Comst.)

Domen BAJEC¹, Karmen RODIČ², Andreja PETERLIN³

^{1,2,3} KGZS – Zavod NM, Služba za varstvo rastlin, Novo mesto

IZVLEČEK

Ameriški kapar (*Diaspidiotus perniciosus* Comst.) iz skupine Coccoidea je polifagna škodljiva vrsta, ki pogosto napada predstavnike rožnic (Rosaceae). Pri obravnavi vrste smo prišli do ugotovitve, da so dosedanji opisi biologije za regijo, ki pokriva Slovenijo nepopolni. Po zastopanosti in stopnji napada najbolj izstopajo intenzivni sadovnjaki jablan. V raziskavi smo spremljali vrsto v naravi, jo dokumentirali ter beležili vremenske dejavnike na mikrolokacijah z agrometeorološkimi meritvami sistema Adcon. Spremljanje razvoja smo vrednotili v desetletnem obdobju gradacije ameriškega kaparja. Na podlagi vsot učinkovitih temperatur pri različnih pragovih smo obravnavali izmerjene okoljske dejavnike in ugotovili sorazmerno skladnost razvoja v naravi s stopnjami predvidenimi pri učinkovitih temperaturah za prag 7,3°C. Temperaturni prag, ki je najbolj približan razmeram značilnim za centralno Evropo, omogoča dokaj dobro izhodišče za napovedovanje razvoja tudi v prihodnje. Za nadaljnjo modifikacijo metode in razvoj napovedovalnega modela pa je potrebno več pozornosti nameniti beleženju posameznih mejnikov v časovnici razvoja.

96

Ključne besede: ameriški kapar, *Diaspidiotus perniciosus*, prognostika, temperaturni prag, vsota učinkovitih temperatur

ABSTRACT

FORECASTING DEVELOPMENT OF SAN JOSE SCALE (*Diaspidiotus perniciosus* Comst.)

San Jose scale (*Diaspidiotus perniciosus* Comst.) from the Coccoidea taxonomic group is polyphagous harmful species, which often attacks rose family (Rosaceae) representatives. When revising species biology, we found out that existing studies covering area of Slovenia are incomplete. Attacks are significant and high graded in intensive apple orchards. In research we observed and documented species in nature and tracked weather parameters on micro locations with Adcon Telemetry agro meteorological system. Development was evaluated in ten years interval of San Jose scale gradation. According to effective temperature sum at several threshold temperatures, we processed measured environmental parameters and confirmed equilibrium of species development in nature with stages predicted at effective temperature sums for threshold temperature of 7.3°C. Threshold temperature which is most common to climate conditions in Central Europe enables good starting point for forecasting San Jose scale development in the future. For further method modifications and development of prognosis model more attention is required for tracking milestones in species development timeline.

Keywords: *Diaspidiotus perniciosus*, effective temperature sum, forecasting, San Jose scale, threshold temperature

¹ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, SI-8000 Novo mesto

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ dipl. inž. agr. in hort., prav tam

1 UVOD

Ameriški kapar (*Diaspidiotus perniciosus* Comstock) je polifag iz skupine Coccoidea (Watson, 2005), ki je bil v jugovzhodni Sloveniji zaradi strmega naraščanja gospodarske škode še do nedavna eden najpomembnejših škodljivcev v nasadih jablane in hruške. Najpogostejši gostitelji so predstavniki rožnic (Rosaceae), a ga najdemo tudi na drugih vrstah. Izbor gostiteljske rastline je odvisen od okolja regije, kjer se nahaja (Kozár, 1990). Napada vse dele rastlin, najpogosteje deblo in poganjke, naseli pa tudi listje in plodove, kjer sesa rastlinske sokove. S slino izloča v rastlino toksine, ki onemogočajo normalen razvoj tkiva. Povzročijo zastoj v rasti in okoli ščitkov kaparja sledi rdečkasto obarvanje tkiva (Gill, 1997; Watson, 2005). Rdeče obarvane lise na plodovih so vizualno moteče in znižujejo tržno vrednost pridelka. Škoda se izraža tudi v prezgodnjem staranju, hiranju in propadu dreves. Povprečna življenjska doba napadene sadike je dve leti (Bajec in sod., 2010). Z možnostjo uporabe insekticida z aktivno snovjo piriproksifen v 2010 se je populacija ameriškega kaparja močno upadla. Kljub temu smo preučevali pristope in možnosti njegovega zatiranja tudi z drugimi načini.

Ameriški kapar je najbolj ranljiv v svojem gibljivem stadiju, v obliki gibljivih ličink I. razvojne stopnje. Ker lahko gibljiva oblika pred tvorbo varovalnega ščitka traja le nekaj ur, je to obdobje za vrsto izredno pomembno tudi pri širjenju na krajše razdalje. Prenos do nekaj kilometrov poteka v prvih urah po izleganju gibljivih ličink s pticami in vetrom. Na daljše razdalje se sicer širi z napadenim sadilnim materialom in plodovi.

Upoštevač rezultate dolgoletnih spremljanj opazovalno napovedovalne službe KGZS – Zavoda NM ter ob izpolnjevanju temperaturnih razmer ugotavljamo, da ima vrsta v Sloveniji dve popolni in delno oz. pogojno tretjo generacijo. Sledenje biologije razvoja ameriškega kaparja v zadnjih osmih letih kaže tudi da ni jasnega prehoda med posameznimi generacijami, kar otežuje izvajanje varstvenih ukrepov proti drugi generaciji (Bajec in sod., 2010). Za omejevanje škode in preprečevanje širjenja na nove nasade je bistveno zagotavljanje varstvenih ukrepov najkasneje do časa pojava gibljive oblike ličinke. Pri izvajanju varstva s fitofarmaceutskimi sredstvi je pomembno, da se zatiranje primarno izvaja na gibljive stadije ličink I. generacije.

2 MATERIAL IN METODE

Termin zatiranja ameriškega kaparja lahko določamo po več metodah. Metodologija napovedovanja razvoja in pojava gibljive oblike ličinke temelji na: rednem spremljanju razvoja opazovane vrste v naravi; izračunavanju datuma pojava gibljivega stadija ličink na osnovi termalne biologije (uporaba temperaturnih vsot); spremljanju leta odraslih samcev ameriškega kaparja s feromonsko vabo.

Podatke o razvoju ameriškega kaparja smo zbirali z opazovanji v intenzivnih pridelovalnih nasadih gostiteljskih rastlin, v naravi in analizami napadenih delov rastlin.

Meteorološke meritve za posamezne mikrolokacije nadzora razvoja ameriškega kaparja so se izvajale z napravami Adcon Telemetry GmbH (Adcon, 2012); obdelava meritev je potekala z aplikacijo Adcon addVantage Pro 5.4.

Preračune pri različnih temperaturnih pragih smo ocenjevali po: Gentile in Summers-u (1958) za temperaturni prag 10,5°C, z vsoto za popolni razvoj generacije potrebnih 584°C; po Baker-ju (1981), ko je pri temperaturnem pragu 7,0°C za popolni razvoj generacije potrebna temperaturna vsota 813°C; po Kozar-ju (1990), ki je pri izračunih začetka izleganja ličink I. generacije opredelil periodo med vsoto učinkovitih temperatur 404,6 in 577,1°C ter Smith-u s sodelavci (1997), po katerih pri temperaturnem pragu 7,3°C nastopi I. generacija pri vsoti temperatur 500°C in II. generacija pri 770°C.

Med spremljanjem razvoja ameriškega kaparja v zadnjem desetletju smo zaznali, da se v posameznih letih z blagimi zimami, v našem okolju nakazuje možnost prezimitve različnih razvojnih stadijev. Na tej osnovi smo za začetek seštevanja upoštevali datumsko novo leto. Opirali smo se tudi na EPPO podatkovno bazo (2009), po kateri se lahko predvideva razvoj dveh popolnih in ene delne generacije.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Primerjave datumov v naravi zaznanih sprememb razvojnih stadijev z rezultati izračunov na osnovi termalne biologije kažejo, da je našim razmeram najbližja metoda za izračun pri temperaturnem pragu 7,3°C, po kateri I. generacijo pričakujemo pri vsoti temperatur 500°C in naslednjo pri 770°C. Primer primerjave izračuna na podlagi agrometeoroloških meritev iz lokacij Artiče in Črnc ter spremljanja razvoja ameriškega kaparja na istih mikrolokacijah je prikazan v preglednici 1. V letih 2006 – 2009 so odstopanja med preračunanimi in dejanskimi datumi pojava gibljivih ličink minimalna. Pri vrednotenju rezultatov je potrebno upoštevati tudi dejavnike kot so konfiguracija terena ter sorazmerna majhna oddaljenost med merilnima mestoma (3,7 km). Pomemben dejavnik je tudi populacijska dinamika: primerjav za obdobje pred 2006 ne prikazujemo zaradi sorazmerno majhnih gostot populacij in posledično večjih odstopanj v okviru rezultatov spremljanja. Kljub temu leto 2004 označimo za mejnik pri stopnjevanju naraščanja gostote populacij, kar potrjujejo tudi rezultati analize intenzivnosti širjenja nasadov napadenih z ameriškim kaparjem (Bajec in sod., 2012; Bajec in sod., 2007-09). Pred tem je bilo za obdobje 2000 – 2004 značilno celo postopno nižanje gostote populacij. Spremljanje gibljivih stadijev je postajalo oteženo zaradi podaljšanega izleganja ličink I. rodu, ki je lahko potekalo v začetek razvoja ličink II. rodu. Izleganje ličink gibljivega stadija je bilo sicer enake (majhne) intenzivnosti ter raztegnjeno praktično skozi celo rastno dobo. V obdobju pred letom 2000 je bila ocenjena gostote populacija vrste *Diaspidiotus perniciosus* na območju JV Slovenije majhna.

Preglednica 1: Prikaz predvidenih datumov pojava gibljivih ličink I. in II. generacije na podlagi izračuna temperaturnih vsot (prag 7,3 °C) in spremljanja v naravi za lokaciji Artiče in Črnc in v letih najizrazitejšega napada.

Table 1: Demonstration of target dates for I. and II. generation crawlers based on degree-days (threshold 7,3 °C) and monitoring on locations Artiče and Črnc in years of most severe infestations.

Datum:	Temperaturni prag: 7,3°C				Rezultati spremljanja – pojav ličink I. razvojnega stadija (lokacija Artiče):		
	Vsota temperaturnega praga 500°C predvideni pojav ličink I. generacije		Vsota temperaturnega praga 770°C predvideni pojav ličink II. generacije				
	Lokacija: Artiče	Lokacija: Črnc	Lokacija: Artiče	Lokacija: Črnc	I. generacija	II. generacija	III. generacija
2000	/	/	/	/	*	*	/
2001	/	/	/	/	28.05.2001	*	/
2002	/	/	/	/	03.06.2002	**	/
2003	/	/	/	/	*	**	**
2004	/	/	/	/	15.06.2004	**	**
2005	/	/	/	/	08.06.2005	**	**
2006	/	12.06.2006	/	28.06.2006	07.06.2006	16.08.2006	06.10.2006*
2007	26.05.2007	29.05.2007	17.06.2007	19.06.2007	15.05.2007	28.06.2007	12.09.2007*
2008	31.05.2008	06.06.2008	23.06.2008	27.06.2008	30.05.2008	10.08.2008*	13.09.2008*
2009	24.05.2009	18.05.2009	17.06.2009	10.06.2009	19.05.2009	04.07.2009*	20.09.2009*

Legenda: / za mikrolokacijo ni zanesljivega podatka;

* točen podatek ni prikazan zaradi majhne gostote populacije in posledično večjih odstopanj v okviru rezultatov spremljanja,

** podaljšano izleganje ličink I. rodu onemogoča natančno opredelitev začetka razvoja ličink II. rodu; izleganje ličink enake intenzivnosti je raztegnjeno skozi celo rastno dobo

* datum določen na podlagi povečane intenzivnosti izleganja ličink

V teh letih je Tomše (1995, 1996, 1997, 1998, 1999) beležila njene pojave in biologijo, vendar je bila škodljiva vrsta še maloštevilna in večinoma ni povzročala gospodarsko omembe vredne škode. Podatki pred letom 1994 slonijo na analizah lesa gostiteljskih rastlin zimskega obdobja in nakazujejo v geografskem pogledu večjo stopnjo zastopanosti napadenih nasadov na zahodu Dolenjske, redko v Posavju in brez zastopanosti v nasadih v Beli krajini.

4 SKLEPI

Ustrezen termin zatiranja škodljivca je možno določati po več metodah. Rezultati kažejo, da lahko zaradi razlik med posameznimi pridelovalnimi legami prihaja v času izleganja I. stadija ličinke, podstadija 'gibljava ličinka', ki je najobčutljivejši na insekticide, tudi do nekajdnevnih zamikov. Najzanesljivejša metoda še vedno ostaja spremljanje izleganja ličink gibljivega stadija na vsaj treh referenčnih lokacijah, kjer je v dolgoletnem obdobju prihajalo do prvih izleganj. Redno spremljanje razvoja vrste v naravi je nepogrešljivo. Metodologija izračunavanja datuma pojava gibljivega stadija ličink na osnovi temperaturnih vsot je dobra sekundarna metoda. Za regionalne razmere in kot možna osnova nadaljnjih modifikacij je najprimernejše izračunavanje pri temperaturnem pragu 7,3°C, ko lahko I. generacijo pričakujemo pri vsoti 500°C in II. pri 770°C. Metoda spremljanja leta odraslih samcev ameriškega kaparja z uporabo feromonskih vab v našem okolju ni preizkušena. Možne bi bile kombinacije več metod; npr. biofix metoda temperaturne vsote 400°C pri pragu 7,3°C, od začetka lova odraslih samcev na feromonske vabe.

5 ZAHVALA

Pri izvajanju raziskave se za pomoč in sodelovanje zahvaljujemo številnim sadjarjem, ki so omogočili vpogled v zdravstveno stanje njihovih nasadov ter Vlasti Knapič in mag. Eriki Orešek (obe UVHVVR). Zasluge pri proučevanju varstva pred ameriškim kaparjem grede tudi mag. Smiljani Tomše.

6 LITERATURA

- Adcon Telemetry GmbH. 2012. Dostopno na: <http://www.adcon.at/> [julij 2012]
- Bajec, D., Knapič, M., Rodič, K., Brence, A., Knapič, V., Peterlin, A., Zajc, M., Vrtin, D. 2010. Poročilo o prereznožitvi ameriškega kaparja (*Diaspidiotus perniciosus* [Comst.], sin. *Quadraspidotus perniciosus* [Comst.]) v JV Sloveniji. KGZS - Zavod NM, Št. zadeve: 37/2010; 07.01.2010
- Bajec, D., Knapič, M., Rodič, K., Brence, A., Peterlin, A. 2012. Obravnava prisotnosti in določanje praga škodljivosti ameriškega kaparja (*Diaspidiotus perniciosus* Comst.) v nasadih jablan in hrušk. Zbornik referatov 3. Slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško, 21.-23. november 2012, 2. del. Ljubljana, Strokovno sadjarsko društvo Slovenije, 2012: 450 str.
- Bajec, D., Pavlin, K., Tomše, S., 2007. Poročilo o opazovalno napovedovalni dejavnosti za leto 2006: Izvajanje opazovalno – napovedovalne dejavnosti. 2007. Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto
- Bajec, D., Rodič, K., Peterlin, A., 2008-2009. Letna poročila o izvajanju nalog iz področja zdravstvenega varstva rastlin na Kmetijsko gozdarskem zavodu Novo mesto: Izvajanje opazovalno napovedovalni dejavnosti. Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto
- Bajec, D., Tomše, S., 2004. Poročilo opazovalno – napovedovalne službe za varstvo rastlin za leto 2003: Nadzor, opazovanja in napovedi zdravstvenega varstva rastlin – za območje Posavja, Dolenjske in Bele Krajine. 2004. Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto,
- Bajec, D., Pavlin, K., Tomše, S., 2006. Poročilo o opazovalno napovedovalni dejavnosti za leto 2005: Izvajanje opazovalno – napovedovalne dejavnosti. 2006. Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto
- Baker, CRB. 1981. San Jose scale, *Comstockaspis perniciosus* (Comstock), assessment of potential in Britain. In: Pest Biology Database, *Comstockaspis perniciosus* datasheet 1165, CSL.
- Davidson, J.A., Miller, D.R. 1990. Ornamental plants. V: D. Rosen (ur.), Armoured scale insects, their biology, natural enemies and control. Vol. 4B. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands: 603-632.
- EPPO. 2009. Datasheets on Quarantine Pests. Dostopno na: http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Quadraspidotus_perniciosus/QUADPE_ds.pdf [20.03.2012]

- Gentile, G.A., Summers, F.H. 1958. The biology of San José scale on peaches with special reference to the behaviour of males and juveniles. *Hilgardia* 27: 269-285.
- Gill, R.J., 1997. The scale insects of California. Part 3. The armored scales (Homoptera: Coccoidea: Coccidae). Technical Series in Agricultural Biosystematics and Plant Pathology No. 3. California Department of Food and Agriculture, Sacramento, California, USA. 307 str.
- Kozár, F., 1990. Forecasting. In: D. Rosen (ed.), *Armoured scale insects, their biology, natural enemies and control*. Vol. 4B. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands: 335-340.
- MacLeod A. 2009. PRA for Diaspidiotus perniciosus, The Food and Environment Research Agency, Sand Hutton, York. Dostopno na:
<http://www.fera.defra.gov.uk/plants/plantHealth/pestsDiseases/documents/sanJoseScale.pdf>
[25.12.2012]
- Miller, D.R., Davidson, J.A., 2005. Armored scale insect pests of trees and shrubs (Hemiptera: Diaspididae); A Comstock Book. 456 str.
- Smith, I.M., McNamara, D.G., Scott, P.R. & Holderness, M. 1997. *Quarantine Pests for Europe*, 2nd Edn., CABI / EPPO, Wallingford, 1425 str.
- Tomše, S., 1995-1999. Poročila dela prognostične službe na območju Kmetijskega zavoda Ljubljana, Oddelek Novo mesto. Kmetijsko gozdarski zavod Ljubljana, Oddelek Novo mesto.
- Tomše, S., Bajec, D., 2000-2003. Letna poročila opazovalno – napovedovalne službe za varstvo rastlin. Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto.
- Tomše, S., Bajec, D., Pavlin, K., 2005. Poročilo o zdravstvenem varstvu rastlin / izvajanju opazovalno – napovedovalne dejavnosti / za leto 2004: Izvajanje opazovalno – napovedovalne dejavnosti. 2005. Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto
- Watson G. W. 2005. *Arthropods of Economic Importance – Diaspididae of the World*. Natural History Museum, London & CAB International & Zoological Museum of the University of Amsterdam & Unesco & Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek & Ministerie van OcenW & Research School Biodiversity. (2009). Dostopno na:
<http://nlbif.eti.uva.nl/bis/diaspididae.php?selected=refs&menuentry=soorten&id=108> [25.12.2012]

SUPPRESSION OF MEDITERRANEAN FRUIT FLY BY SIT OVER THE 4000 HA OF FRUIT ORCHARDS IN NERETVA RIVER VALLEY

Mario BJELIŠ¹, Luka POPOVIĆ², Suzana DEAK³, Ivana BULJUBAŠIĆ⁴,
Ante IVANOVIĆ⁵, Pero ARNAUT⁶, Rui PEREIRA⁷

^{1,4,5} Institute for Plant Protection, Croatian Centre for Agriculture, Food and Rural Affairs,
Solín, Croatia

^{2,3,6} Neretva Medfly Fly Emergence and Release Facility, Institute for Plant Protection,
Croatian Centre for Agriculture, Food and Rural Affairs, Opuzen, Croatia

⁷ Insect Pest Control Section, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and
Agriculture Vienna, Austria

ABSTRACT

101 Medfly - *Ceratitis capitata* (Wied.) is a pest of high economic importance in Neretva valley, affecting production of several fruit species, specially mandarins, *Citrus reticulata* grown mainly for export to EU, former Yugoslavia countries and Russia. The export reach up to 75% of total yield valued to over 20 million of euros per year. Medfly infestation in mandarin's fruits is estimated to be 10-30% without any control measures and also causes major problems to exports due to quarantine restrictions and pesticide residues on fruits. After two years (2010-2011) of successfully suppression trough an Sterile Insect Technique (SIT) pilot project integrated with other suppression methods, conducted with cooperation of the FAO/IAEA, the Croatian Ministry of Agriculture expand the project to the whole lower part of the Neretva valley in 2012, covering over 4000 hectares of fruit orchards, mainly mandarines. For this reason, a fly emergence and release facility in Opuzen with capacity of handling 20 million of sterile flies/week was additionally equipped. Releases are performed mainly with two ground release machines, using chilled flies, mounted on vehicles. Trapping system is set and geo-referenced over the whole SIT treated and non-treated area of the valley (additional 4000 ha) with 3C lures Tephri Traps. Captured flies are checked by fluorescent lamps to separate sterile from the wild flies and provide information on the insect population level. Routine fruit sampling is undertaken to evaluate fruit infestation and suppression efficacy. Results of the two years of pilot project showed that medfly population, measured as number of larvae per kg of fruit, was reduced annually from 75,9 – 93,2% in figs and 75,9 – 99,2% in mandarins in SIT treated area compared with non-treated area. Results of the 3rd year of the project showed high level of the suppression medfly population, measured as number of larvae per kg of fruit for 73,9% in figs, 92,4% in peaches and 96,8% in mandarins.

Key words: sterile flies, mandarins, *Ceratitis capitata*, Sterile Insect Technique

¹ dr., Zvonimirova 14 a, Solin, Croatia, E-mail: mario.bjelis@hcphs.hr

² dipl. ing., Tisno bb, Opuzen, Croatia, E-mail: luka.popovic@hcphs.hr

³ ing. bacc., prav tam, E-mail: suzana.deak@hcphs.hr

⁴ dipl. ing., Zvonimirova 14 a, Solin, Croatia, E-mail: ivana.buljubasic@hcphs.hr

⁵ dipl. ing., prav tam, E-mail: ante.ivanovic@hcphs.hr

⁶ Tech., Tisno bb, Opuzen, Croatia, E-mail: luka.popovic@hcphs.hr

⁷ dr., Vienna International Centre PO Box 100 1400 Vienna, Austria, R.Cardoso-Pereira@iaea.org

1 INTRODUCTION

The Mediterranean fruit fly - *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera, Tephritidae) is a pest of great economic importance in the Neretva valley, affecting production of several important crops, but its negative effects are manifested mainly in the export oriented production of *Citrus reticulata* B, mandarin. The Mediterranean fruit fly in the Neretva valley was first detected in 2001 (Pelicarić *et al.*, 2001; Pelicarić and Bjeliš, 2002; Bjeliš and Pelicarić, 2004). It was estimated that the damage this pest causes in mandarin growing, in orchards as well as the economic damage observed in the export activities reach to the total of 10-30% yield, depending on the year, incidence and intensity of this pest (Bjeliš *et al.*, 2007).

The Neretva valley extends to 15 000 hectares of Croatian territory, of which 7 000 hectares are agricultural areas, where grown mandarins represent a culture of highest economic importance. Mandarin is one of few fruit species in Croatia which production quantities suffice the needs of the domestic market and 75% of total annual yield is exported mainly to countries of former Yugoslavia, the EU and the Russian Federation. Total annual production of mandarins in the Neretva valley, depending on the year, amounts 40 – 60.000 tons and increases each year due to many young plantations, with estimated annual production of 100.000 tons in a few years. In order to undertake and implement legal measures for suppression of the Mediterranean fruit fly, various analysis were conducted and, as a result, the most efficient measures of control were adopted. Studies of economic and technical feasibility recognized SIT (Sterile Insect Technique) as the best method for suppression of the Mediterranean fruit fly in the Neretva valley for several reasons. Cost-benefit analysis resulted in C:B = 1:6, meaning that one invested Euro produces six times more benefits (Bjeliš, 2007). Also, Neretva valley is one of the most northern breeding areas of citrus in Europe, which is a limiting factor for the effect of the Mediterranean fruit fly during the winter months. In order to understand the benefits of this method it's important to mention the presence of several ornithological and ichthyological reservations and protected sites in the area of growing mandarins in the Neretva valley, in favor of the usage of ecological methods of suppression. Bearing in mind that the Mediterranean fruit fly attacks when fruits are mature, the farmers are limited to the application of pesticides. The EU market is very rigorous and sensitive to the presence of residues of pesticides and some importing countries like Serbia or Russia (which represents a significant and constantly growing export market), put the Mediterranean fruit fly on the A1 quarantine pest list, which represents a very demanding set of conditions to the export path of the Neretva mandarin (Bjeliš *et al.*, 2008, 2010).

Due to a number of reasons presented, it was decided to apply a world-wide tested method of combating this pest, a sterile insect method of suppression, which represents a non-pesticide, environmentally friendly and selective method that involves laboratory mass rearing of a large number of sterile males, which are then released into nature and orchards. These males are released into nature in large quantities, where they compete with males from natural, "wild" populations. Sterile males do not give offsprings in copulation with fertile females from the wild population so the damage can't be manifested by the presence of larvae in the host fruit. In order to properly carry out the implementation of SIT method, through cooperation of the International Atomic Energy Agency (IAEA) and the Ministry of Agriculture, Fisheries and Rural Development, through the Croatian Technical Cooperation Project TCP RER 5014, with capital investment of the Ministry, the necessary funds were provided for construction (2010) and equipment of facilities for the implementation of SIT programs.

2 CONSTRUCTION AND EQUIPPING OF STERILE FLIES PACKING AND EMERGENCY FACILITY

Facility for the purpose of implementing the SIT program was built in 2010., it is located in city of Opuzen, county Dubrovačko - neretvanska and occupies an area of 180 m². The facility, in its full capacity, enables the development of 20 million sterile pupae specimens per week, which meets the needs of the program implementation in the entire growing area of the valley. The funds are not yet sufficient to treat the whole area, so the program now operates and covers a total of 4000 ha, where the majority of the productive mandarin plantations is located.

The facility is organized into several rooms, with a purpose of ensuring the adequate implementation of the program and consists of:

1. Room for reception and packing of sterile pupae of the Mediterranean fruit fly: controlled laboratory conditions, equipped with volumetric automatic packing line, paper bag sealing machine;
2. Laboratory for quality control of the sterile pupae shipments: controlled laboratory conditions, equipped with pupal counter machine, precision balance, plexiglas cages for adult holding;
3. Room for food preparation and drying: equipped with device for mixing of the food, balance, equipment for preparing and cooking food from agar;
4. Two separate holding rooms for the emergence and development of sterile males: controlled laboratory conditions, humidifier and dehumidifier, day – night conditions, air changes equipment;
5. Rooms for cold treatment and collecting of adult sterile insects for machine release: chilling device, collection table;
6. Laboratory for the examination and identification of the catch from traps: UV lamps, fluorescent binocular;
7. Rooms for the development of collected fruits of hosts and examination of export shipments: controlled laboratory conditions, drying device, collection tables and pots,
8. Office with computers used for data entry and the archive of reports and collected data.

Apart from the above mentioned structure of the facility for SIT technique, for the outdoor field operations, the program uses four SUVs of which two pick-up models, two devices for machine release of sterile individuals and two boats for a full coverage of hardly accessible areas.

3 TREATED AREA FROM 2010. TO 2103.

Suppression of the Mediterranean fruit flies began as a pilot project in 2010., as well as the construction of the facility for the implementation of SIT programs. The treated area covered only a semi-isolated area called Vidrice, of about 1000 ha (Bjeliš *et al.*, 2010). Vidrice are located in the southern part of the valley, between Mala Neretva river to the north, bordered by mountain chain to the south and east and the sea to the west. In order to prevent invasion from the surrounding areas, certain control measures were carried out in villages Lovorje, Tuševac, Pižinovac, Otok, Mihalj and Trn, as well as in the villages Vlaka, Buk and Crepina, that defined a buffer zone. During the year 2011 treated area has been expanded to an additional 50 ha of city of Opuzen with settlements Jasenska, Trnovo and Pinovac, area along

the coast of Mala Neretva River and 200 ha of plantations near Opuzen which was in total 1,250 hectares treated with sterile insects.

During 2012. the area under treatment has further increased to the north–border area for mandarin growing, villages Šarić Struga, Banja and Rogotin, whole southern-east area of the valley: Komin, the whole Jasenska, Modrič, locations Aerodrom, Crepina, Glog, Ušće, Prunjak, Blato, Vidrice canal, Mala Neretva and Rastoka which ultimately represents the treatment of 4000 ha of land, better to say the majority of grown mandarin plantations and other fruits in the Neretva Valley. In the current year 2013., the same area is being treated.

4 ACTIVITIES IN THE FACILITY BEFORE RELEASE

4.1 Reception

Sterilized pupae arrive in the facility for applying SIT techniques in Opuzen in the amount of 11-14 million pupae per week, in two separate shipments, during the period from mid - April to the end of November, while the Mediterranean fruit fly is active in plantations. In the year 2013. the amount will reach a total of 350 million sterile males, packaged, bred and released. Pupae are supplied by a Spanish producer TRAGSA. Shipment of pupae in transit must meet certain requirements. The box which contains the pupae packed into small bags has to be made of firm material in order not to get damaged during package manipulation at airports. Also, it should meet the isolation conditions of temperature preserving so it's often made of polystyrene, clearly labeled and that it contains living organisms and should be handled carefully, as well as recommended storage temperature during transportation, which must be within 15-20 ° C. To achieve this temperature, it is obligatory to put artificial gel-ice and a data logger – USB stick inside the consignment, in order to measure and store information about the temperature in the shipment during the transport.

4.2 Quality control during development

After receiving the consignment in the facility, the box is opened and using digital thermometers the average temperature of the shipment is measured. After weighing each bag containing pupae and checking indicators of sterility, the status of hypoxia in bags with pupae is checked, the average sample is taken to the laboratory for quality control and used as the basis for obtaining information about the average weight of pupae and the material for setting the prescribed standard of quality control tests carried out for each shipment such as: stress test-a % of surviving flies in conditions without food and water in total darkness after 48 h. Other tests performed are: obtaining data on the percentage of flyers from shipments depending on the method of packing, % of deformed specimens, emergence after 72 hours after packing and at the very day of release and tests measuring the impact of cold treatment on the percentage of flyers. Furthermore, the total amount of collected flies is measured in kg and the average weight of developed units (in mg). In addition to these tests, once a year cages are set out in the field where they simulate natural conditions so it is possible to observe compatibility of sterile males compared to the fertile ones in copulation with females from the wild population.

4.3 Packaging

After receiving the consignment and carrying out all necessary operations, begins the packaging process. Taking into consideration two ways of release, we use two methods of

packaging. For release on locations and terrains that are hardly accessible to vehicles, we use paper bags, each containing 500 pupae and towers of type Mubarqui (Mexico). These towers are actually cages for emergence of grown units, they consist of 16 levels each, with maximum capacity of 50.000 pupae per level or 800.000 pupae per tower in total. Units that are packed in towers are being used in ground release with vehicles. After receiving the pupae and taking a relevant sample, they are placed into a machine with mechanism for counting, weighed and their volume is determined. Based on the results that we get on 5000 pupae, we calculate volume of 50.000, in order to determine the volume of the pupae placed in each level of the tower. These data are relevant for the next phase, which is dosing the pupae using a semi-automated filling machine with a pre-made range of volumetric units in order to select the one that responds to the given volumetric value. The food used in packaging paper bags is so called dry food, consisting of sugar and proteins, but with no water added so it is obligatory to add water in some cases on a daily basis, through the bags which are made of adequate permeable material. For packaging the towers, dry food based on sugar and proteins is used as well, but with addition of agar food that contains both food and water and pads soaked with additional water. Each tower level is equipped with an additional plastic material to increase the surface, ensure adequate arrangement of pupae in zig-zag shape, preventing damage of pupae.

4.4 Development in holding rooms

After the packaging, paper bags containing pupae and packed towers are placed into air-conditioned rooms, in controlled conditions that are ensured by air-condition (21 – 25 °C, 55- 65 % relative humidity), a mechanism for humidification that controls the relative humidity in the air, a special dehumidification device that annulates external influences by collecting and accumulating extra humidity and a lighting system called „day-night“ that simulates natural conditions by duration of daylight. A ventilation system is also built in, which enables exchange of complete air volume in the rooms 1-6 times per hour. The ventilation system helps reduce CO₂, created as a by-product of the breathing process of sterile insects that can be harmful for their later performances. The fruit flies are held in these controlled conditions for 6 to 7 days, after which are released in nature. In order to improve the sexual performances of the sterile males and encourage their sex drive, 24 hours before the release, they are exposed to ventilated air with concentration of 0,3 ml/m of ginger oil.

5 RELEASE OPERATIONS

5.1 Release of paper bags

Release of paper bags is used on small parcels intersected with numerous canals and terrains that are not accessible to vehicles. In two – three day period after the packaging, flies begin to emerge from pupae and on the sixth day of development in controlled conditions, the flies are sexually mature and full of energy, which is optimal for their release. Release of paper bags covers 45% of the entire treated area and is conducted according to pre-defined routes. So far, ten release routes are defined, which is enough to cover 5 million of sterile units released weekly, in 1000 packed paper bags. A part of the above mentioned 45 %, applies to the inaccessible areas treated with two boats on three defined routes.

5.2. Releasing sterile units by semi-automatic machine

For machine-release we use mature units from second method of packaging – towers with levels. Towers are presenting cages in which flies are moving and flying. In order to open the cage and transfer flies to the releasing machine, cold treatment has to be made.

Cold treatment is conducted in a specific room equipped with cooling system which in exactly given time-term lowers the temperature on required 1°C. On this temperature, flies are being shocked which makes them immobile but it does not cause any damage. Previously set food containers, pads and plastic are taken from each level and flies from the levels are being collected by using collecting table. 6 million sterile units are being collected in this manner on a weekly basis. Thus prepared units are transferred to the releasing machine.

The program has two semiautomatic devices for releasing sterile units (Bjeliš and Popović, 2012). The devices are fixed on iron constructions so they can be placed and displaced from official pick-up vehicles if needed. The releasing device contains a cooler with aluminum container where the 2-5 °C temperature is maintained during the release, an installed ventilator for preventing moisture condensation in the container, fly-holder, worm gear on the bottom of the container for dosing flies in the releasing pipe, blower engine which by “venturi effect” absorbs under-cooled and dosed insects in the tube and pressurized air expels flies through the tube. The system is driven by two sources of energy: gasoline engine that runs the cooler and blower, and a recording device that connects to the 12 V power inside the vehicle. The driver manages all operations from the vehicle by using the control box and controls the switching on and off the ventilator, determines the rotational speed of worm gear that is, regulates the speed and quantity of sterile units. Releasing is carried out on the routes taken by GPS system, there are seven altogether and they cover 55% of the total treated area of 4.000 ha. These machines are prototypes of Plant Protection Institute, and as such represent an innovation in SIT programs (Bjeliš *et al.*, 2013a)

6 METHODE OF THE EVALUATION OF EFFICASSY

6.1 Adult captures

In order to monitor the occurrence and catch of the Mediterranean fruit fly, and discover new hot spots throughout the Neretva valley, a network is set of 136 traps type Tephra Trap, 113 in the treated and 23 in the untreated area. All traps contain attractants 3FA-trimethyl-amine, ammonium acetate, putrescine, with the addition of insecticides DDP. Besides tracking natural populations to compare the effectiveness of programs and methods, the intensity of wild populations in the treated and untreated area is also observed. Traps placed in the treated area also have the purpose of monitoring sterile populations. Since the sterile units are treated with fluorescent powder before the shipment, when examined in the laboratory for identification under UV lamps, they are clearly distinguished from the wild ones. With this method the dispersion effectiveness of sterile units in the treated area is being evaluated as well as the employees in their releasing activities. All traps are being identified and controlled on a weekly basis. Results shows that FTD (Flies per trap per day) ratio between sterile and wild population in favor of sterile flies during end of August (FTD Ratio sterile/wild= 230) and during end of September (FTD Ratio sterile/wild=50,6) what is a prove of good dispersion of the sterile flies in the field.

6.2 Rate of fruits infestation

In order to determine the effect of SIT method and calculate the efficiency of reducing damage on the Mediterranean fruit fly, fruits of the host of this pest are being sampled. Facility for the implementation of SIT technology possesses precisely made maps with marked parcels of major hosts in the valley, except citrus fruits, such as apricots (*Prunus armeniaca*), plum (*Prunus domestica*), peach and nectarine (*Prunus persica*), fig (*Ficus carica*) and japanese apple (*Diospyros kaki*) to their maturation time. These maps also serve for further treatment while releasing sterile units in these target areas. Since the whole Neretva valley covers about 7,000 hectares of agricultural land and the treated area in the year 2013 is 4000 ha, collecting samples of fruits of hosts on treated and untreated area, gives a clear picture of efficiency by repeated patterns during the season. That way, in the previous 2012, 1300 kg of fruits were collected from the ground through the period of hosts' maturation to evaluate the effectiveness of applied technique. We will list the results of reduced infection in the treated area compared to untreated area which is calculated by the number of larvae / kg which presents the index of infection. The results have showed that the applied SIT technique resulted in a decrease of the infection index in figs fruits by 75.9% and 99.2% in mandarins during the 2012.

6.3 Control of export shipments

In addition to the above procedures with the fruits from the field, the rate of the presence of the Mediterranean fruit fly in the export shipments of mandarin is carried out. A sample is taken from the export shipments and during the season 40 samples are being sampled. The sample consists of 200 fruits that are individually placed on the development process and the infection appearance is being monitored. All these operations are carried out in the fruit sampling room in the part of SIT technique facility, in a controlled environment with the aim of accelerating the development of the larvae in the fruit of the host in order to get precise information in relatively short period of time.

The fruits are placed on tables or individually in containers for development where the larvae, after the development process finishes, leave the fruit or drop down through the wire, than larvae are being collected and recorded.

After two years of implementation of the above analysis and 40 samples processed per year, the number of positive samples has been reduced from approximately 90% during the 2011, to about 50% during the 2012 (Bjeliš *et al.*, 2013b).

7 CONCLUSION

The results of the application of the Sterile Insect Technique (SIT techniques) as species selective and environmentally acceptable method of combating the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* Wied. over the area of 4000 ha, confirms the high effectiveness of the SIT for the suppression of Mediterranean fruit fly in the ecological conditions of the Neretva valley. Based on the obtained results, it is to expect that this method will be applied to the entire area of the Neretva valley to the side of the Croatia and Bosnia and Herzegovina.

8 REFERENCES

- Bjeliš M., Pelicarić V. (2004). Fruit flies in Croatia; Overview of damage and current controll strategies. U: Barnes, B. (ed.), Proceedings of VIth International Symposium of Fruit Flies of Economic Significance, Stellenbosch, South Africa, May 2002: 325-329.

- Bjeliš, M (2007). Feasibility study of medfly (*Ceratitis capitata* Wied) control by sterile insect technique in Neretva river valley. Lectures and papers presented at the 8th Slovenian conference on plant protection, Radenci, March 6-7: 193-198.
- Bjeliš, M., Radunić, D., Masten, T., Kotlar, A. (2007). Spatial distribution and temporal outbreaks of medfly *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera, Tephritidae) in Republic of Croatia. Lectures and papers presented at the 8th Slovenian conference on plant protection, Radenci, March 6-7: 321-325.
- Bjeliš, M., Ljubetić, V., Novosel, N. (2008). Control of medfly by SIT in the Neretva river valley. Fruit flies of Economic Importance: From basic to applied knowledge. Proceedings of the 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance, R.L.Sugayama, R.Zucchi, S.M.Ovruski, J.Sivinski (eds), Biofabrica Moscamed Brasil, Salvador, 2008, Brasil: 255-259.
- Bjeliš M., Marušić I., Popović L. (2010). SIT Pilot project in Croatia: Control of medfly by SIT in the Neretva river valley, 8th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance, Valencija, Španjolska, Proceedings of the 8th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance. B.Sabater Munoz, V.Navarro Llopis, AUrbaneja Garcia (eds), Editorial Universitat Politècnica de València, Valencia 2010: 200-205.
- Bjeliš, M., Popović, L. (2012): Use of the ground release machines in neretva SIT program for the release of the high quality chilled sterile males. TEAM 2nd International Meeting "Biological invasions of tephritidae:ecological and economic impacts", Kolymbari, Greece, Abstracts: 138.
- Bjeliš, M., Radunić, D. and Bulić, P. (2013a). Pre- and post-release quality of sterile *Ceratitis capitata* males released by an improved automated ground release machine. Journal of Applied Entomology, 137: 154–162. doi: 10.1111/j.1439-0418.2011.01660.x
- Bjeliš, M. Popović, L. Deak, S., R.Cardoso-Pereira (2013b): Postupci kontrole nazočnosti sredozemne voćne muhe u izvoznim pošiljkama neretvanske mandarine tijekom 2011-2012. godine. 8. Znanstveno stručno savjetovanje hrvatskih voćara, Zagreb 1-2.03.2013. Zbornik sažetaka: 112-113.
- Pelarić, V., Bjeliš, M., Kotlar, A., Kirigjija, I., Caput, I. (2001). Sredozemna voćna muha, *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera, Tephritidae) – sve značajniji štetnik u Dalmaciji. Sažeci priopćenja 45. seminara iz zaštite bilja, Opatija, 13-16. veljače, 2001. Glasnik zaštite bilja 1, 29-30. (sažetak).
- Pelarić, V. i Bjeliš, M. (2002). Rezultati detekcije i monitoringa sredozemne voćne muhe, *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera, Tephritidae) u 2001. godini. Sažeci priopćenja 46. seminara iz zaštite bilja, Opatija, 12-15. veljače, 2002. Glasnik zaštite bilja 1, str. 15-16. (sažetak).

INVENTARIZACIJA RESARJEV V CVETOVIH KOŠČIČARJEV NA PRIMORSKEM, POTENCIALNIH POVZROČITELJEV PORJAVENJA KOŽICE PLODOV

Mojca ROT¹, Gabrijel SELJAK²

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

IZVLEČEK

Resarji so gospodarsko pomembni škodljivci koščičarjev. Najpogosteje povzročajo škodo pri pridelavi sliv in nektarin. Poškodbe, ki jih povzročajo ličinke s prehranjevanjem na plodnici, se pozneje odražajo v obliki porjavenja pokožice plodov. Da bi ugotovili, katere vrste resarjev so najbolj verjetni povzročitelji teh poškodb, smo v letih 2011 in 2012 izvedli inventarizacijo resarjev v cvetovih koščičarjev na 7 lokacijah na Primorskem. V pregled so bile vključene vse pridelovalno pomembne vrste koščičarjev. V obdobju cvetenja smo zbrali 14 vzorcev, v katerih je bilo ugotovljenih 13 različnih vrst resarjev. Vse najdene vrste pripadajo družini Thripidae. Najpogostejša in najbolj številčna je bila vrsta *Thrips meridionalis* (Priesner 1926), ki smo jo našli v cvetovih vseh koščičarjev razen na cibori. Pri večini sadnih vrst so bile poleg vrste *T. meridionalis* zastopane še naslednje vrste: *Thrips major* Uzel 1895, *Taeniothrips inconsequens* (Uzel 1895) in *Frankliniella intonsa* (Trybom 1895), ki so znane kot povzročiteljice porjavenja kože plodov. V cvetovih višenj, marelic in cibore je bila najdena tudi vrsta *Thrips minutissimus* L. V majhnem številu in na posameznih gostiteljskih rastlinah so bile identificirane vrste: *Thrips flavus* Schrank 1776, *Thrips fuscipennis* Haliday 1836, *Thrips atratus* Haliday 1836, *Thrips alni* Uzel 1895, *Thrips tabaci* Lindeman 1889, *Thrips physapus* L. in *Taeniothrips picipes* (Zetterstedt 1828), ki jih obravnavamo kot priložnostne obiskovalce cvetov koščičarjev. V cvetovih večine koščičarjev se je pojavljal tudi *Thrips brevicornis* Priesner 1920. Vrsta je v Evropi splošno razširjena, v Sloveniji pa do sedaj še ni bila evidentirana.

Ključne besede: resarji, koščičarji, porjavenje kože plodov

ABSTRACT

THRIPS INVENTORY IN STONE FRUIT FLOWERS IN PRIMORSKA REGION AS A POTENTIAL CAUSERS OF FRUIT RUSSETING

Thrips are pests of economic importance on stone fruit. Fruit damage related to thrips is most common in plum and nectarine production. Injuries done by larvae feeding on ovary is later seen as russetting of fruit skin. In order to find out which are the species that may cause fruit injuries, an inventory was carried out on 7 locations in Primorska region in 2011 and 2012. All major stone fruit species were involved in the survey. During bloom stage 14 samples were collected and examined. 13 different species of thrips were found, all belonging to the family Thripidae. The most frequent was *Thrips meridionalis* (Priesner 1926), which was found in the flowers of all stone fruit except on *Prunus instititia*. In almost all samples *Thrips major* Uzel 1895, *Taeniothrips inconsequens* (Uzel 1895) and *Frankliniella intonsa* (Trybom 1895) were present. All these species are known as pests of stone fruits. *Thrips minutissimus* L. was found in flowers of sour cherry, apricot and *P. instititia*. In addition the

¹ univ. dipl. inž. agr., Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica

² mag., univ. dipl. inž. agr., prav tam

following thrips species were found: *Thrips flavus* Schrank 1776, *Thrips fuscipennis* Haliday 1836, *Thrips atratus* Haliday 1836, *Thrips alni* Uzel 1895, *Thrips tabaci* Lindeman 1889, *Thrips physapus* L. and *Taeniothrips picipes* (Zetterstedt 1828). They were recorded in low number and can be considered as occasional visitors of stone fruits flowers. In several samples *Thrips brevicornis* Priesner 1920 occurred. This species is widespread in Europe, but has not been recorded in Slovenia yet.

Key words: Thrips, stone fruit, fruit russetting

1 UVOD

Resarji so gospodarsko pomembni škodljivci v pridelavi koščičarjev. Največja škoda nastaja pri pridelavi nektarin ter sliv in češpelj. Obseg škode je odvisen od velikosti populacije resarjev, vrste napadenih rastlinskih organov (cvet, list), razvojnega stadija gostiteljske rastline in njene občutljivosti. Na plodovih koščičarjev ločimo dve vrsti poškodb. Porjavenje kože plodov povzročajo odrasli resarji pri odlaganju jajčec v cvetove ter ličnike s hranjenjem na cvetnih plodnicah. Ličinke sesajo rastlinske sokove pri osnovi vratu pestiča in v vrhnji polovici mladih plodičev. Na mestu vboda, tkivo zaradi propada epidermalnih in parenhimskih celic porjavi in nekrotizira. Z rastjo plodov se obseg poškodovanega tkiva povečuje in lahko prekrije večji del ploda. Pri slivah in češpljah je kožica porjavela. Na plodovih nektarin pa je poškodovano tkivo plutasto, z globokimi brazgotinami, iz katerih se lahko izceja smola. Odrasli resarji ali ličinke, s prehranjevanjem na obarvani kožici plodov povzročajo srebrnenje. Celice iz katerih izsesajo vsebino, se napolnijo z zrakom, zaradi tega dobijo plodovi na mestu poškodbe srebrnkast odsev.

Preglednica 1: Pregled resarjev, ki se omenjajo kot povzročitelji gospodarske škode na koščičarjih.
Table 1: An overview of thrips species recorded as economic important pests of stone fruits.

Vrsta / Species	Gostiteljska rastlina/ Host plant	Vir:
<i>Frankliniella occidentalis</i>	breskev nektarina, sliva nektarina breskev, nektarina	Pinet <i>et al.</i> 2008, Reuveny & Vierbergen, 2007 Pearsall, 2000, Tommasini & Ceredi 2007, Hazir & Ulusoy 2012 Marullo, 2001, Payne <i>et al.</i> 1991
<i>Frankliniella intonsa</i> (Trybom)	nektarina	Kourmadas, 1982
<i>Frankliniella tritici</i> (Fitch)	breskev	Payne <i>et al.</i> 1991
<i>Thrips meridionalis</i> (Priesner 1926),	nektarina, sliva breskev nektarina	Reuveny & Vierbergen, 2007 Marullo, 2001 Kourmadas, 1982
<i>Thrips major</i> Uzel 1895	nektarina, sliva nektarina	Reuveny & Vierbergen, 2007 Hazir & Ulusoy 2012
<i>Thrips tabaci</i> Lindeman 1889	breskev nektarina, sliva nektarina	Pinet <i>et al.</i> 2008 Reuveny & Vierbergen, 2007 Hazir & Ulusoy 2012

V Sloveniji so kot gospodarsko pomembni škodljivci koščičarjev znani *Taeniothrips inconsequens*, ki se množično pojavlja v cvetovih češenj, češpelj in sliv ter breskev in nektarin, *Thrips vulgatissimus*, kot sestavni del mešanih populacij resarjev na slivah in češpljah, v velikem številu pa se pojavlja na breskvah in nektarinah ter *Frankliniella intonsa* v mešanih populacijah resarjev na češnjah in slivah (Trdan & Andjus, 2003). Na češnjah in slivah sta bili najdeni tudi vrsti *Thrips fuscipennis* in *Taeniothrips inconsequens* (Janežič 1991), slednji je bil zastopan tudi v cvetovih breskev (Janežič, 1993). V cvetovih breskev, češenj in sliv je bil evidentiran *Thrips minutissimus* (Janežič, 1992), v cvetovih češenj *Thrips*

flavus (Janežič, 1992). Med povzročitelji porjavenja kožece plodov koščičarjev se v zadnjem desetletju v svetovni literaturi najpogosteje omenja *Frankliniella occidentalis* ali cvetlični resar. Pred tem je za najbolj razširjenega in potencialno najnevarnejšega povzročitelja poškodb veljal *Thrips meridionalis* (Marullo, 2001).

2 MATERIALI IN METODE DE LA

Resarje smo spremljali in vzorčili v letih 2011 in 2012, v času cvetenja koščičarjev, od sredine marca do sredine aprila. Večino vzorcev smo nabrali v nasadih sliv, breskev in nektarin, kjer smo v preteklih letih opazali poškodbe plodov, oziroma na lokacijah, kjer je nastajala gospodarska škoda. V letu 2011 smo vzorce odvzeli na območju Brkinov, v letu 2012 pa v Brkinih, v Vipavski dolini in na Tolminskem. Poleg slive, breskve in nektarine, smo resarje vzorčili tudi v cvetovih drugih koščičarjev (mandelj, marelica, cibora, češnja, višnja) z namenom ugotavljanja pestrosti populacije. Resarje smo nabirali z metodo otresanja cvetov oz. vejic s cvetovi, na belo trdo podlago. Do identifikacije smo resarje hranili v plastičnih epruvetah, v 70 % alkoholu.

Identifikacijo smo opravili na odraslih osebkih. Preparati za mikroskopiranje so bili pripravljani v mlečni kislini in toplotno obdelani. Morfološka identifikacija je potekala pod optičnim presevnim mikroskopom Nikon Eclipse Ni-U. Pri določanju resarjev smo uporabljali identifikacijske ključe avtorjev Mound *et al.* (1976), Palmer *et al.* (1989), Mound in Kibby (1998) in Zur Strassen (2003).

3 REZULTATI

Preglednica 2: Pregled gostiteljskih rastlin, datumov ter lokacij vzorčenj.
Table 2: An overview of host plants, dates and localities sampled.

Gostiteljska rastlina Host plant	Datum vzorčenja Sampling date	Lokacija vzorčenja Sampling locality
sliva	12.04.2011	Čelje
	08.04.2012	Staro selo
	23.03.2012	Bilje – Sadjarski center
breskev	23.03.2012	Miren
	28.03.2013	Bilje
	28.03.2012	Bilje – Sadjarski center
nektarina	28.03.2012	Bilje – Sadjarski center
marelica	21.03.2012	Kromberk - grad
	25.03.2012	Staro selo
	29.03.2012	Zavrhek
cibora	18.04.2012	Staro selo
mandelj	14.03.2012	Kromberk – Ampelografski vrt
češnja	21.03.2012	Kromberk - grad
višnja	18.04.2012	Staro selo

Preglednica 3: Pregled identificiranih vrst resarjev na različnih gostiteljskih rastlinah
Table 3: A list of thrips species identified on various host plants.

VRSTA RESARJA	GOSTITELJSKA RASTLINA/Host plant							
	mandelj/ <i>P. dulcis</i>	marelica/ <i>P. armeniaca</i>	breskev/ <i>P. persica</i>	nektarina/ nectarine	cibora/ <i>P. instititia</i>	sliva/ <i>P. domestica</i>	češnja/ <i>P. avium</i>	višnja/ <i>P. cerasus</i>
<i>Thrips meridionalis</i>	+	+++	+++	++		+++	+	+
<i>Frankliniella intonsa</i>		+	++	+				
<i>Taeniothrips inconsequens</i>	+	++	+	+		+	+	

<i>Thrips major</i>	+	+	+		+	+		+
<i>Thrips minutissimus</i>		+			+			+
<i>Thrips brevicornis</i>		+	+		+	+		
<i>Taeniothrips picipes</i>			+					
<i>Thrips flavus</i>			+					+
<i>Thrips alni</i>		+						
<i>Thrips fuscipennis</i>						+		
<i>Thrips atratus</i>					+			
<i>Thrips physapus</i>		+						
<i>Thrips tabaci</i>				+				

Legenda/Legend: manj kot 5 osebkov/less than 5 specimens (+); 5-10 osebkov/5-10 specimens (++); več kot 10 osebkov/more than 10 specimens (+++)

4 RAZPRAVA IN SKLEPI

Na različnih vrstah koščičarjev smo ugotovili 13 vrst resarjev, med njimi 7 vrst potencialnih povzročiteljev porjavenja kože plodov. Najštevilčnejše so bile vrste *Th. meridionalis*, *F. intonsa*, *T. inconsequens* in *Th. major*. Naštete vrste so predstavljale 70% vseh evidentiranih osebkov. Cvetličnega resarja (*F. occidentalis*), ki se v svetovni literaturi največkrat omenja kot povzročitelj porjavenja kože plodov, v cvetovih koščičarjev nismo našli. Enako velja za tobakovega resarja (*T. tabaci*). Najden je bil le en osebek v mešani populaciji resarjev v cvetovih nektarin. V majhnem številu in na posameznih gostiteljskih rastlinah so bile identificirane tudi vrste: *Th. fuscipennis*, *Th. atratus*, *Th. alni*, *Th. physapus* in *Taeniothrips picipes*, ki jih obravnavamo kot priložnostne obiskovalce cvetov koščičarjev. V cvetovih breskve, marelice, cibore in slive se je pojavljala tudi vrsta *Thrips brevicornis*, ki je sicer v Evropi splošno razširjena, v Sloveniji pa do sedaj še ni bila evidentirana.

5 LITERATURA

- Hazir M., Ulusoy R. 2012. Population Fluctuation of Thrips Species (Thysanoptera: Thripidae) in Nectarine Orchards and Damage Levels in East Mediterranean Region of Turkey J. Entomol. Res. Soc., 14, 1: 41-52, 2012.
- Janežič, F. 1991. Prispevek k poznanju tripsov ali resarjev (Thysanoptera) na rastlinah v Sloveniji. Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljublj., 57: 169-178.
- Janežič, F. 1992. Drugi prispevek k poznanju tripsov ali resarjev (Thysanoptera) na rastlinah v Sloveniji. Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljublj., 59: 175-189.
- Janežič, F. 1993. Tretji prispevek k poznavanju tripsov ali resarjev (Thysanoptera) na rastlinah v Sloveniji. Zb. Bioteh.fak. Univ. Ljublj., 61: 161-180.
- Kourmadas, L.A. 1982. Timing of spraying for control of thrips in Nectarines trees. Chronika Benaki Phytopathological institute. Vol.13(2): 124-131.
- Marullo, R. 2001. Impact of an introduced pest thrips on the indigenous natural history and agricultural systems of southern Italy. In Thrips and Tospoviruses. Proceedings of the 7th International Symposium on Thysanoptera (Marullo, R. and Mound, L., ur.): 285–288, CSIRO
- Mound, L.A, Kibby, G. 1998: Thysanoptera: an Identification Guide. CAB International: 70 pp.
- Mound, L.A, Morison, G.D., Pitkin, B.R., Palmer, J.M. 1976: Handbook for the identification of British insects: Thysanoptera. Royal entom. soc. London, Vol. I, Part 11: 79 pp.
- Palmer, J.M., Mound L.A., Heaume, G.J. 1989: CIE Guides to insects of importance to man: 2. Thysanoptera. CAB International Inst. Entom., British Museum Natural History: 73 pp.
- Payne, J.A., Yonce, C.E., Beshear, R.J., Horton, D.L. 1991. Thrips on stone fruits: formative stage of pest management. (Parker, B-L., Skinner, M., Lewis, T., ur.) Towards Understanding Thysanoptera. Gen.Tech.Rep.NE-147. Radnor, PA:U.S. department of Agriculture, Forest service, Northeastern forest Experiment station: 359-369.

- Pearsall, I.A. Damage to Nectarines by the Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae) in the Interior of British Columbia, Canada. 2000. *Journal of Economic Entomology*, 93, 4: 1207-1215(9)
- Pinent S.M.J., Mascaró F., Botton M., Redaelli L.R. 2008. Thrips (Thysanoptera: Thripidae, Phlaeothripidae) damaging peach in Paranapanema, São Paulo State, Brazil. *Neotropical Entomology*, 37, 4: 486-488.
- Reuveny, H., Vierbergen, G. 2007. Thrips species fauna in stone-fruits in Israel. Abstracts of presentations at the 24th Congress of the Entomological Society of Israel, May 17, 2005, ARO, The Volcani Center, Bet Dagan, Israel. *Israel Journal of Entomology*, 37, 2007
- Tommasini M.G., Ceredi G. 2007. Damages on nectarines by thrips in northern Italy: monitoring and control on late attacks. *Bulletin of Insectology*, 60,1: 71-75.
- Trdan, S., Andjus L. 2003. Gospodarsko pomembne vrste resarjev (Thysanoptera) v Sloveniji in ZR Jugoslaviji. Zbornik predavanj in referatov 6. posvetovanja slovenskega o varstvu rastlin, Zreče, 4.-6. marec 2003. Maček J. (ur.). Ljubljana. Društvo za varstvo rastlin Slovenije, Biotehniška fakulteta. Oddelek za agronomijo: 414-422.
- zur Strassen, R. 2003: Die terebranten Thysanopteren Europas. *Die Tierwelt Deutschlands*, 74. Teil: 277 pp.; Goecke & Evers, Keltern

IZKUŠNJE Z ZATIRANJEM OREHOVE MUHE (*Rhagoletis completa* Cresson) V SV SLOVENIJI V LETIH 2011 IN 2012

Jože MIKLAVC¹, Miro MEŠL², Boštjan MATKO³, Anita SOLAR⁴, Stanislav TRDAN⁵

^{1,2,3}KGZS – Zavod Maribor, Maribor

⁴Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Raziskovalno polje za lupinarje, Maribor

⁵Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

IZVLEČEK

V letu 2011 smo v proizvodnem nasadu oreha v Razvanju pri Mariboru preizkušali učinkovitost delovanja pripravkov Calypso 480 SC, Ulmasud B in Lithovit, v letu 2012 pa pripravka Calypso 480 SC + Nutrel. V obeh letih je bila v primerjavi s kontrolo preizkušena tudi metoda mehaničnega zatiranja s pokrivanjem tal pod krošnjo oreha s kopreno Vrteks. V letu 2011 smo škropili celo drevo, v letu 2012 pa samo spodnjo tretjino krošnje. V kontroli neškropljeno je bil delež napadenih plodov 77,42% (2011) oz. 88,98% (2012). Pri metodi prekrivanja tal smo v letu 2011 zabeležili 42,42% napadenih plodov, v letu 2012 pa samo 28,93%. Podobno učinkovitost z 49,93% napadenih orehov je pokazala kombinacija pripravkov Calypso 480 SC + Nutrel, sledi Calypso 480 SC z 61,66% napadenih plodov. Alternativna pripravka Lithovit in Ulmasud B sta bila neučinkovita s 74,22% oz. 86,32% napadenih orehov.

114

Ključne besede: delež napadenih plodov, insekticidi, *Rhagoletis completa* Cresson,

ABSTRACT

EXPERIENCES WITH WALNUT HUSK FLY (*Rhagoletis completa* Cresson) CONTROL IN NE SLOVENIA IN YEARS 2011 AND 2012

Different products, such as an insecticide Calypso 480 SC and plant strengtheners Ulmasud B, and Lithovit were used to control walnut husk fly (*Rhagoletis completa* Cresson) in the commercial walnut orchard Razvanje near Maribor in the year 2011. In the year 2012, only Calypso 480 SC combined with Nutrel was tested. Additionally, a mechanical protection method with covering the under-canopy surface with fine veil Vrteks was compared with the control and chemicals in both years. Whole walnut trees were sprayed in the first year of the experiment, whilst in the second year, only the inferior third part of the trees were treated. Untreated trees gave 77.42 % (2011) and 88.89 % infested nuts (2012), respectively. The lowest percentage of the infested nuts was recorded when covering the under-canopy surface was used (42.42% in the year 2011 and 28.93% in the year 2012). Similar efficiency with 49.93 % of infested nuts were recorded after spraying with Calypso 480 SC + Nutrel, which was followed by Calypso 480 SC (61.66 % of infested nuts). Considering 74.22 % and 86.32 % of infested nuts, the alternative products Lithovit and Ulmasud B were shown as unefficient against walnut husk fly.

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. agr. znan., znan. svet., prav tam

⁵ prof., dr. agr. znan., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

Key words: insecticides, percentage of the infested nuts, *Rhagoletis completa* Cresson,

1 UVOD

Orehova muha (*Rhagoletis completa* Cresson Diptera, Tephritidae) je najpomembnejši škodljivec oreha. V Sloveniji so jo odkrili prvič v Vipavski dolini leta 1997 (Seljak in Žežlina, 1999), do leta 2011 se je razširila po celotni Sloveniji (Miklavc in sod., 2013). V SV Sloveniji opažamo, da napad orehove muhe narašča. V letih 2006 in 2007 je bil na drevesih oreha, ki rastejo na vrtovih, ugotovljen napad do 50%, v intenzivnih nasadih pa do 70% (Miklavc in sod., 2008). Tudi v letu 2012 je orehova muha v severovzhodni Sloveniji povzročila veliko gospodarsko škodo, ki je v posameznih nasadih nihala med 70 in 90 % (Miklavc in sod., 2013).

Vzrok za pojav velikih izgub pridelka v tem obdobju je bil nedvomno v pomanjkanju registriranih fitofarmaceutskih sredstev za zatiranje orehove muhe, kot tudi potrebnih izkušenj pri spremljanju bionomije škodljivca. S tem namenom je bilo v obdobju od 2006 do 2012 v SV Sloveniji izvedenih vrsto raziskav spremljanja sezonske dinamike pojava orehove muhe (Miklavc in sod., 2009, 2010; Mešl in sod., 2011), preizkušanj fitofarmaceutskih sredstev z namenom poiskati primerna in učinkovita fitofarmaceutska sredstva (Solar in sod., 2007, Miklavc in sod., 2008, 2009a, 2013).

V dvoletni raziskavi nas je zanimala učinkovitost delovanja insekticida Calypso 480 SC, ki je pridobil v letu 2011 uradno registracijo za zatiranje orehove muhe, sredstev za krepitev rastlin Ulmasud B in Lithovit, ter metoda mehaničnega zatiranja s pokrivanjem tal pod krošnjo oreha s kopreno Vrteks.

115

2 MATERIAL IN METODE DELA

Poskus s pripravkom Calypso 480 SC in sredstvi za krepitev rastlin Ulmasud in Lithovit smo izvedli v obeh letih na isti lokaciji: v proizvodnem nasadu oreha v Razvanju pri Mariboru, skupne velikosti 3 ha. Poskus je bil izvajan na 0,3 ha, sorta je bila Franquette, starost nasada 21 let.

V obeh letih izvajanja poskusa smo škropili z nahrbtnim pršilnikom Stihl SG 430. Poraba vode v letu 2011 je bila 3,0 l/drevo, kar pomeni ob gostoti 120 dreves 360 litrov vode na hektar. Tretirali smo celotno krošnjo. V letu 2012 je bila poraba vode 1,0 l/drevo, tretirali smo samo spodnji del krošnje do višine 4 m.

Poskus je bil postavljen po metodi naključnih blokov s štirimi ponovitvami. Statistično analizo smo opravili s pomočjo analize variance. Stopnja zaupanja je bila 0,95. Za izračunavanje statistično značilnih razlik med povprečji obravnavanj smo uporabili Duncan test.

V posamezni ponovitvi smo tretirali samo eno drevo. Seznam pripravkov in datumi škropljenj v letu 2011 in 2012 so prikazani v preglednicah 1 in 2.

Pod krošnjo štirih dreves je bila položena koprena – Vrteks. Namen položitve koprene je bil preprečitev izleta orehove muhe in nadaljnega odlaganja jajčec orehove muhe v zeleno lupino. Učinkovitost metode preprečevanja leta orehove muhe s položitvijo koprene je bila izrednotena istega dne kot učinkovitost delovanja insekticidov s področnim pregledom do 1000 plodov pod in na drevesih.

Poskus v letu 2011 smo ocenili 26. in 27. septembra, v letu 2012 pa 24. septembra. Pri tem smo pregledali za posamezno ponovitev 600 - 800 plodov, skupaj za postopek 2400 - 3200 plodov. Štelo pregledanih plodov v letu 2012 je bilo zaradi pozebe manjše - od 118 do 280 na ponovitev, za postopek skupno od 491 do 897.

Plodove smo vizualno ocenili ali so zdravi ali napadeni od orehove muhe, ter jih glede na površino napadene zelene lupine razdelili v štiri razrede. V razredu 0 so bili plodovi s popolnoma zdravo lupino, v razredu I z lupino napadeno do 1/3 površine, v razredu II od 1/3 do 2/3, v razredu III od 2/3 do 3/3 in v razredu IV plodovi s popolnoma napadeno lupino.

Preglednica 1: Trgovska imena pripravkov in aktivnih snovi, odmerki in datumi škropljenj proti orehovi muhi v poskusu na lokaciji Razvanje v letu 2011.

Table 1: Trade names of insecticides and active ingredients, doses and dates of spraying used against walnut husk fly in the Razvanje orchard, year 2011.

Št. obr.	Kemični pripravek	Aktivna Snov	Odmerek		Datum
			g, ml, a.s./ha	kg, l prip./ha	škroplj.
1.	Lithovit	Naravno foliarno gnojilo	-	-	17.6. 29.6.
2.	Ulmasud	Minerali glin		10	1.8. 8.8 16.8
3.	Calypso SC 480	Tiaklopid 480 g/l	120	0,25	8.8 16.8
4.	Pokrito s kopreno - Vrteks				
5.	Kontrola	-	-	-	-

Preglednica 2: Trgovska imena pripravkov in aktivnih snovi, odmerki in datumi škropljenj, proti orehovi muhi v poskusu na lokaciji Razvanje v letu 2012.

Table 2: Trade names of insecticides and active ingredients, doses and dates of spraying used against walnut husk fly in the Razvanje orchard, year 2012.

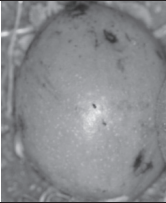

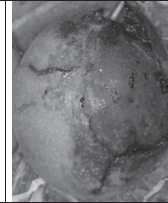
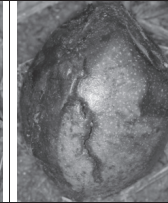
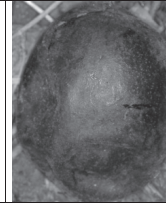
Št. obr.	Kemični pripravek	Aktivna Snov	Odmerek		Datum
			g, ml, a.s./ha	kg, l prip./ha	škroplj.
1.	Calypso SC 480 + Nutrel	Tiaklopid 480 g/l Aminokisliline in peptidi	120 45	0,08 1,5%	2.8 8.8. 22.8.
2.	Pokrito s kopreno - Vrteks				
3.	Kontrola	-	-	-	-

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V kontroli neškropljeno je bilo na sorti 'Franquette' 51,3% plodov s popolnoma poškodovano lupino, ter 21,76% brez poškodb, deleži razredov I, II in III so bili pod 10% (Preglednica 3). Podoben odstotek plodov s popolnoma poškodovano lupino je bil ugotovljen pri sredstvih za krepitev odpornosti rastlin Ulmasud in Litovit. Najmanj plodov s popolnoma poškodovano lupino je bilo ugotovljeno pri postopku pokrivanja pod krošnjo dreves s kopreno (29,1%). V tem postopku je bil delež popolnoma zdravih plodov največji (57,6%), iz česar lahko sklepamo, da je koprena preprečila izlet muhe iz zemlje, nastalo škodo lahko pripišemo priletu muhe iz sosednjih dreves. Postopek pokrivanja tal se je v omenjenem poskusu statistično značilno razlikoval od ostalih postopkov (pripravkov) v razredu 0 in IV.

Preglednica 3: Rezultati delovanja insekticidov in metode pokrivanja tal proti orehovi muhi (*Rhagoletis completa* Cresson) v letu 2011.

Table 3: Results of testing insecticide, plant strengtheners and method with covering the under-canopy surface with fine veil Vrteks against walnut husk fly (*Rhagoletis completa* Cresson) in a year 2011.

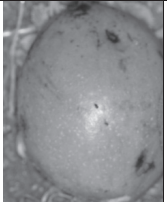

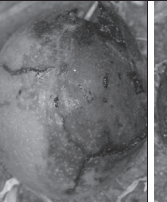
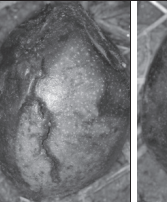
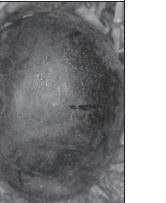
Kemični pripravek	Poškodovana lupina (razred/delež površine)				
	0	I (do 1/3)	II (1/3 do 2/3)	III (2/3 - 3/3)	IV (3/3)
					
Calypso	38,29 bc*	11,18 c	6,28 a	9,5 bc	34,7 ab
Ulmasud	13,67 a	4,61 a	7,51 a	11,2 c	63,0 c
Litovit	25,79 ab	7,64 bc	6,18 a	9,4 ab	51bc
Pokrito	57,64 c	5,02 a	3,7 a	4,6 a	29,1a
Kontrola	21,76 ab	9,12 bc	7,04 a	9,96 bc	51,3 bc

*Različne črke v stolpcu prikazujejo statistično značilne razlike med obravnavanji pri $P \leq 0,05$.

117

Preglednica 4: Rezultati delovanja insekticida Calypso + Nutrel in metode pokrivanja proti orehovi muhi (*Rhagoletis completa* Cresson) v letu 2012.

Table 4: Results of testing insecticide Calypso combined with Nutrel and method with covering the under-canopy surface with fine veil Vrteks against walnut husk fly (*Rhagoletis completa* Cresson) in a year 2012.

Kemični pripravek	Poškodovana lupina (razred/delež površine)				
	0	I (do 1/3)	II (1/3 do 2/3)	III (2/3 - 3/3)	IV (3/3)
					
Kontrola	11,01 a*	16,95 b	25,36 b	21,41 b	25,26 ab
Pokrito	71,5 c	4,8 a	3,82 a	3,47 a	16,84 a
Calipso + Nutrel	50,7 b	7,35a	4,85 a	6,75 a	30,98 b

*Različne črke v stolpcu prikazujejo statistično značilne razlike med obravnavanji pri $P \leq 0,05$.

Odstotek plodov s popolnoma poškodovano lupino je bil največji pri uporabi pripravka Calypso + Nutrel (30,98%) - celo večji kot v kontroli – neškropljeno (25,26%) (Preglednica 4). Menimo, da je vzrok za takšen rezultat v načinu delovanja pripravka Calypso SC 480, ki je sistemski insekticid s kratkim – nekaj dnevnim kontaktnim delovanjem, medtem, ko je delovanje atraktanta Nutrel dolgotrajnejše in ga je po navodilu proizvajalca potrebno uporabljati skupaj s perzistentnimi kontaktnimi insekticidi. Najmanjši odstotek popolnoma

napadenih plodov je bil pri postopku pokrito (16,84%), kar lahko pripišemo dobrim letalnim sposobnostim imaga orehove muhe. Postopek pokrivanje se je statistično značilno razlikoval od postopka Calypso 480 SC + Nutrel. Med ostalimi primerjavami ni statistično značilnih razlik.

Delež popolnoma zdravih plodov je bil največji pri postopku pokrito (71,5%) in je preesešel tudi delež popolnoma zdravih plodov v letu 2011 (57,6%), kar pomeni, da je bila uspešno preprečena prezimitev ličink orehove muhe, saj je bila v letu 2011 koprena postavljena vse do konca meseca oktobra. Odstotek popolnoma zdravih plodov v postopku pokrito se je statistično značilno razlikoval od kontrole in pripravka Calypso SC 480 + Nutrel.

V razredih I, II in III se je kontrola – neškropljeno statistično značilno razlikovala od ostalih dveh postopkov.

4 SKLEPI

Dveletni poskus zatiranja orehove muhe je pokazal, da je najučinkovitejši postopek pokrivanje tal pod drevesom oreha s kopreno. Odstotek popolnoma zdravih plodov je bil največji v obeh letih. Prav tako je bil odstotek plodov s popolnoma poškodovano lupino v obeh letih najmanjši. S pokrivanjem koprene pa ni bil preprečen prilet oplojenih samic iz sosednjih dreves in odlaganje jajčec.

Omenjena metoda mehaničnega zatiranja - preprečevanje izleta imaga orehova muhe s polaganjem koprene pod krošnjo dreves orehov ima v praksi svoje mesto v manjših nasadih oreha in za varstvo posameznih dreves na vrtovih, v večjih nasadih, na nagnjenih terenih je metoda tehnično manj izvedljiva.

118

Delovanje pripravkov Lithovit in Ulmasud v letu 2011 se je pokazalo kot premalo učinkovito, ugotovljen je bil podobno velik odstotek plodov s popolnoma poškodovano lupino kot v kontroli neškropljeno, zato postopkov škropljenja nismo ponovili v letu 2012.

Zatiranje s pripravkom Calypso 480 SC v letu 2011 ni bilo dovolj učinkovito. Nedvomno je k temu rezultatu pripomoglo samo dvoje tretiranj, ki so bila opravljena v mesecu avgustu v času prvega vrha leta orehove muhe, medtem ko je bil drugi vrh leta orehove muhe ob koncu tretje deкаде avgusta in v začetku prve deкаде septembra popolnoma nezaščiten. K slabšemu delovanju insekticida so pripomogle tudi visoke temperature zraka v avgustu in septembru, zaradi česar je bila sistemičnost pripravka zmanjšana.

Uporaba pripravka Calypso 480 SC skupaj z atraktantom Nutrel, kjer smo škropili samo spodnji del krošnje do višine 4 metrov s tretjinskim odmerkom pripravka Calypso 480 SC (0,08 L/ha) trikrat v sezoni se je pokazala kot možnost učinkovitega zatiranja orehove muhe. Delež popolnoma zdravih plodov je bil 50,7%. Omenjeni pripravek z atraktantom je bil uporabljen prvič 2. avgusta, to je 16 dni po prvem ulovu orehove muhe na rumene plošče. V tem obdobju je bil delež samic z jajčeci v ovarijih 65%, iz česar lahko sklepamo, da se je prav v tem obdobju pričelo množično odlaganje jajčec. Menimo, da samo s tremi škropljenji nismo pokrili celotnega leta populacije orehove muhe - mesec september in začetek leta orehove muhe sta bila nepokrita. Po izkušnjah iz tujine bi bilo potrebno uporabiti atraktant z insekticidom vsaj petkrat, prvič ob ulovu prve muhe na rumeno ploščo, kar se v našem primeru zaradi nepravočasne dobave atraktanta s strani dobavitelja ni zgodilo. Zaradi večkratne uporabe pripravka Calypso SC 480 bi bilo potrebno ustrezno spremeniti tudi navodilo za uporabo.

5 ZAHVALA

Zahvaljujemo se gospodu Ivanu Jarcu, da nam je omogočil izvedbo poskusov v njegovem nasadu orehov v Razvanju.

6 LITERATURA

- Mešl, M., Miklavc, J., Matko, B., Lešnik, M., Vajs, S., Solar, A. 2011. Spremljanje sezonske dinamike orehove muhe (*Rhagoletis completa* Cresson) v SV Sloveniji. V: Maček, Trdan (ur.) Zbornik predavanj in referatov 10. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Podčetrtek, 1.-2. marec 2011. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2011: 45-52.
- Miklavc, J., Mešl, M., Matko, B., Solar, A. 2008. Izkušnje z zatiranjem orehove muhe (*Rhagoletis completa* Cresson) v SV Sloveniji v letu 2007. V: Hudina, M. (ur.) Zbornik referatov 2. Slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško, 31. januar - 2. februar 2008. Ljubljana, Strokovno sadjarsko društvo Slovenije, 2008: 337-343.
- Miklavc, J., Mešl, M., Matko, B. 2013. Poročilo o delu opazovalno-napovedovalne službe v letu 2012. Maribor, Kmetijsko gozdarski zavod, 2013: 40-43
- Miklavc, J., Mešl, M., Matko, B., Štampar, F., Solar, A. 2009. Walnut husk fly (*Rhagoletis completa* Cresson) in Slovenia - Seasonal dynamics as followed in Maribor (NE). Acta Horticulturae. 861: 389-394.
- Miklavc, J., Mešl, M., Matko, B., Solar, A. 2009a. Spremljanje sezonske dinamike orehove muhe (*Rhagoletis completa* Cresson) v letu 2008 z rumenimi lepljivimi ploščami in rezultati preizkušanja insekticidov. V: Maček (ur.) Zbornik predavanj in referatov 9. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Nova Gorica, 4.-5. marec 2009. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2009: 343-348.
- Miklavc, J., Mešl, M., Matko, B., Solar, A., Trdan, S. 2013. Izkušnje z zatiranjem orehove muhe (*Rhagoletis completa* Cresson) v SV Sloveniji v letih 2011 in 2012 = Experiences with walnut husk fly (*Rhagoletis completa* Cresson) control in NE Slovenia in years 2011 and 2012. V: Trdan (ur.) Izvlečki referatov. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2013: 43.
- Seljak, G., Žežlina, I. 1999. Pojav in razširjenost orehove muhe (*Rhagoletis completa* Cresson) v Sloveniji. V: Maček, J. (ur.) Zbornik predavanj in referatov 4. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Portorož, 3.-4. marec 1999. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 1999: 231-238.
- Solar, A., Miklavc, J., Seljak, G., Mešl, M., Matis, G., Matko, B., Pliberšek, T., 2007. Prve izkušnje z zatiranjem orehove muhe (*Rhagoletis completa* Cresson) v severovzhodni Sloveniji. V: Maček (Ur.) Zbornik predavanj in referatov 8. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 6.-7. marec 2007. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2007: 220-224.

POJAVNOST RILČKARJEV (*Curculionidae*) IN NARAŠČANJE GOSPODARSKE ŠKODE V EKOLOŠKIH SADNIH NASADIH

Domen BAJEC¹, Karmen RODIČ², Andreja BRENCE³, Lucija LESKOVŠEK⁴,
Andreja PETERLIN⁵

^{1,2,5} KGZS – Zavod NM, Služba za varstvo rastlin, Novo mesto

³ KGZS – Zavod NM, Oddelek za kmet. svetovanje, Novo mesto

⁴ Griže

IZVLEČEK

Ekološki nasadi jablane so v obdobju zadnjih let čedalje pogosteje izpostavljeni napadom nekaterih vrst hroščkov iz skupine rilčkarjev (*Curculionidae*). Od škodljivih vrst najbolj izstopata bukov rilčkar skakač (*Orchestes fagi* L.) in jablanov cvetožer (*Anthonomus pomorum* L.). Občasno so škodljive tudi povečane populacije navadnega rjavčka (*Phyllobius oblongus* L.). Gradacije bukovega rilčkarja skakača so v tesni povezavi z okoljskimi razmerami, predvsem klimatskimi razmerami, ki sprožajo migracije iz območij primarne gostiteljske rastline tudi na sadne drevesne vrste. Zaradi morfoloških in vedenjskih lastnosti je hrošček težje opazen. Njegov nalet v sadnih nasadih lahko od prvega pojava poteka 3 do 10 dni, medtem ko je jakost napada nepredvidljiva. Jablanov cvetožer je v naravnem razvoju vezan na jablano in v primeru ugodnih razmer, ki jih najde v ekoloških nasadih, lahko povzroči izredno gospodarsko škodo. V letih 2011 in 2012 smo v več ekoloških nasadih beležili naraščajoče škode, ki so se gibale med 85 in 100% izgube cvetnega nastavka. Omenjenim vrstam je skupno, da je intenzivnost njihovega napada težko napovedati, saj je povezan z ekološkimi razmerami v začetku rastne dobe. Dosedanji varstveni ukrepi temeljijo predvsem na odvrtačnem delovanju sredstev na osnovi žvepla, kalcijevega polisulfida ali mineralnih glin, ki v primeru intenzivnega napada ne zadoščajo. Ob naraščajoči škodi so brez ustreznega varstva izgube v ekoloških nasadih velike in iz gospodarskega vidika nesprijetljive.

Ključne besede: *Anthonomus pomorum*, ekološki sadni nasadi, gospodarska škoda, *Orchestes fagi*, rilčkarji

ABSTRACT

OCCURRENCE OF WEEVILS (*Curculionidae*) AND RISE OF ECONOMIC DAMAGE IN ECOLOGICAL FRUIT PLANTATIONS

Ecological apple orchards are over a period of recent years increasingly exposed to attacks of certain species of beetles from the group of Weevils (*Curculionidae*). Of harmful Weevil species are most important Beech flea weevil (*Orchestes fagi* L.) and Apple blossom weevil (*Anthonomus pomorum* Linnaeus). Occasionally harmful are also European snout beetle (*Phyllobius oblongus* Linnaeus) abundant populations. Gradation of Beech flea weevil is in correlation with environmental conditions, in particular climatic conditions which give rise to migration from areas of the primary host plant to fruit tree species. Because of morphological

¹ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, SI-8000 Novo mesto

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ dr. agr. znan., Pongrac 83, SI-3302 Griže

⁵ dipl. inž. agr. in hort., Šmihelska c. 14, SI-8000 Novo mesto

and behavioral features, beetle is tough to be noticed. His swoop in fruit plantations can last 3 to 10 days, while the intensity of the attack is unpredictable. Apple blossom weevil's natural development is bound to apple tree, and in the case of favourable conditions, which are found in organic plantations, it can cause extreme economic damage. In the years 2011 and 2012, we recorded increasing yield losses in several organic plantations where the damage of flower buds ranged between 85 and 100%. The intensity of these weevils' species attacks is hard to predict because of their correlation with ecological factors within the beginning of the growing period. Current protective measures are based mainly on the repellent effects of active substances on the basis of sulphur, lime sulphur or mineral clays that are insufficient in case of intense attack. Without suitable protection for ecological plantations the losses are increasing, are too big and therefore from economic point of view unacceptable.

Keywords: *Anthonomus pomorum*, ecological fruit plantations, economic damage, *Orchestes fagi*, weevils

1 UVOD

Ekološka pridelava sadja se zaradi okoljskih sprememb v zadnjih letih čedalje izraziteje srečuje s škodljivimi organizmi, katerih pojav ni periodičen in jih je zelo zahtevno napovedovati. Težje predvidljivi pojavi so vezani zlasti na organizme iz skupine žuželk, katerim se v njihovem primarnem življenjskem okolju rušijo ustaljena ravnovesja in so zato prisiljeni iskati nove vire tudi v intenzivnih pridelovalnih nasadih.

2 METODE IN MATERIALI

V raziskavi smo obravnavali intenzivne nasade jabolane v ekološkem načinu pridelave v Sloveniji.

2.1 Ocenjevanje škode

Postopki ocenjevanja škode so zajemali preglede napadenih sadovnjakov, določanje tipa poškodb, določanje povzročitelja in vrednotenje obsega poškodb. Preglede napadenih sadovnjakov smo izvajali v letih 2010, 2011 in 2012. Podatki za leto 2008 in 2009 so pridobljeni na podlagi posameznih ogledov nasadov. Skupna površina 24 intenzivnih ekoloških nasadov jabolane v Sloveniji znaša 71,44 ha. Škodo smo ocenjevali v 9 večjih nasadih, z 62% deležem skupnih nasadov. Vsi obravnavani nasadi so od gozdnih sestojev oddaljeni od 0 do 500 m. Pri ocenjevanju škode bukovega rilčkarja skakača smo opravili pregled 200 plodičev ter škode jabolčnega cvetožera pregled cvetnih nastavkov v 200 brstih proporcionalno vzorčenih iz različnih predelov nasada.

2.2 Tipi poškodb

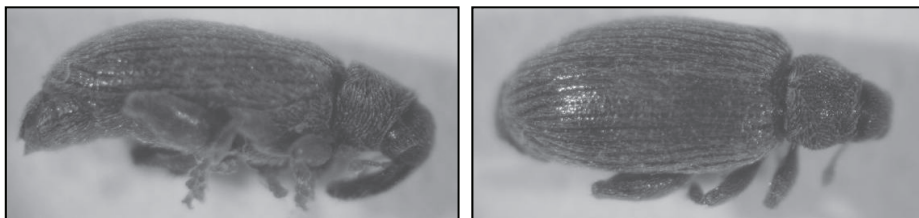
Tipi poškodb so vezani na obravnavane povzročitelje:

a) Odrasli osebki bukovega rilčkarja skakača (*Orchestes fagi* L.) povzročajo poškodbe na listni površini in plodičih. Hroščki listno površino izjedajo in skeletirajo, kar se še ne kaže kot gospodarska škoda. Pojave te vrste na sadnem drevju so beležili tudi drugi avtorji (Jurc, 2011; Dieter, 1964). Zgodnje poškodbe plodičev v fenološkem razvoju po lestvici BBCH (Meier *et al.*, 2001): 71-74 pomenijo neposreden izpad pridelka. Poškodbe plodičev v kasnejši fenološki razvojni stopnji, po lestvici BBCH: 75-79, povzročijo predvsem izpad pridelka zaradi izpostavljenosti ran glivičnim okužbam ali najnižji kvalitetni razred zaradi deformacij plodov. Poškodbe smo zaradi možnih zamenjav povzročiteljev zabeležili le v primeru prisotnosti odraslih osebkov.

b) Samičke jablanovega cvetožera (*Anthonomus pomorum* L.) odlagajo v času brstenja (fenološki razvoj po lestvici BBCH: 57-59) jajčeca v cvetne brste. Izlegle ličinke s hranjenjem na cvetnih zasnovah uničijo cvetni nastavek in povzročijo izgubo pridelka.

2.3 Povzročitelji poškodb

a) Bukov rilčkar skakač ima eno generacijo letno in ga zaradi značilnega vedenja v stopnji ličinke, tvorbe rogov in min, uvrščajo med listne zavrtače. Prepoznavanje je poleg morfoloških značilnosti slonelo tudi na vedenjskih vzorcih in časovnih obdobjih pojavljanja v sadnih nasadih. Hrošček je v naravi zaradi majhnih dimenzij težje opazen, pri čemer mu znatno pripomore še spretno umikanje ob zaznani nevarnosti s skrivanjem in značilnim odsakovanjem. Opisan je kot dober letalec (Jurc, 2010), kar lahko pojasni njegove selitve tudi na od gozda oddaljene sadne nasade. Razvoj ima vezan na bukove gozdove (Jurc, 2007), a smo prve pojave na sadnem drevju vedno beležili nekaj dni za prvim zrelostnim žrtjem na bukvi, praviloma med drugo polovico aprila ter začetkom maja. Drugo obdobje poškodb na sadnem drevju je tekom poletja sovpadalo s pojavom drugega zrelostnega žrtja naslednje generacije, praviloma v juniju.



122

Sliki 1 in 2: Odrasel osebek bukovega rilčkarja skakača meri v dolžino le 2 do 3 mm in je temno rjavih, črnih odtenkov. Rilček ima hipognaten. Foto: D. Bajec
Figures 1 and 2: Adult Beech flea weevil measures in length only 2 to 3 mm and is dark brown to black shades of colour. It has downbackward-curving snout. Photo: D. Bajec



Sliki 3 in 4: Hrošček med hranjenjem na listu jablane (levo) in poškodbe na plodičih (desno). Foto: D. Bajec
Figures 3 and 4: Beech flea weevil during feeding on apple leaf (left) and damage on fruitlets (right). Photo: D. Bajec

b) Jablanov cvetožer je praviloma škodljiv le v nasadih, oz. predelih, ki so v bližini gozda ali visokodebelnih travniških sadovnjakov. Ima eno generacijo letno, škodo pa povzročajo le ličinke na cvetnih zasnovah. Poškodbe z izvrtanjem značilnih luknjic se začnejo 10 do 15

dni po pojavljanju odraslih osebkov, ki se pariyo in nekaj dni kasneje začnejo še z odlaganjem jajčec.

3 REZULTATI

Bukov rilčkar skakač je poznan kot monofag na bukvi, a je v zadnjih letih, v obdobju zrelostnega žrtja čedalje pogostejše prehaja tudi na sadno drevje. Do sedaj smo ga (Bajec in sod., 2009-11; Bajec, 2011) zabeležili na sadnih vrstah: jablana (*Malus* sp.), češnja (*Prunus avium* L.), višnja (*Prunus cerasus* L.), malinjak (*Rubus idaeus* L.) ter robida (*Rubus* sp.). Odrasli osebki so bili v primeru napadov med hranjenjem na navedenih sadnih vrstah vedno opazovani in tudi vzorčeni. Prve resne škode smo začeli beležiti 2009, kasneje pa se je obseg prizadetih območij širil po sadnih vrstah in stopnjeval po intenzivnosti. Pojav, ki se je v Posavju sprva kazal kot zanimiva prerazmnožitev na bukvi in kostanju, je v tednu dni že pomenil gospodarsko škodo v nasadih breskev. Le ta se je leto kasneje še bolj izrazito kazala v ekoloških nasadih jabolane na Dolenjskem, tudi integrirani pridelavi zgodnjih sort jabolk, nasadih češenj in sadnih vrtovih. Prerazmnožitev na sadnem drevju ni dolgotrajen pojav, naleti hroščkov trajajo 3 – 10 dni, a kljub temu pušča opazne posledice. V mesecu juniju mladi hroščki med zrelostnim žrtjem na sadnem drevju povzročajo izvrtine in objedanje listov. Listi z večjim številom izvrtin se pri višjih temperaturah ozračja posušijo. Veliko pomembnejša je škoda na plodičih in plodovih. Rilčkar plodiče navrta, zaradi česar z razvojem odpadejo ali postanejo iznakaženi. V primeru padavin so pogosto izpostavljeni glivičnim okužbam – zlasti glivam iz rodu *Monilinia*. Ker so gradacije pogostejše ob zanj ugodnih vremenskih razmerah (v času odlaganja jajčec višje povprečne dnevne temperature ter nizke količine padavin), zgnijejo večinoma le plodovi češenj, višenj in jagodičja.

Močnejšim napadom jablanovega cvetožera so izpostavljeni ekološki nasadi, zlasti na legah v bližini gozda. Obseg škode je v zadnjih letih v posameznih nasadih v strmem naraščanju, leta 2012 je na nekaterih legah dosegal celo 100%.

Preglednica 1: Beležke ocenjenih deležev [%] povprečne in maksimalne škode cvetnih zasnov v ekoloških nasadih jabolane zaradi jablanovega cvetožera v letih 2010 do 2012.

Table 1: Evaluation notes of assessed [%] average and maximum blossom damage in organic apple orchards due to Apple blossom weevil in years 2011 to 2012.

Škoda v 2010		Škoda v 2011		Škoda v 2012	
povprečna	največja	povprečna	največja	povprečna	največja
17,8	33,0	25,7	54,5	43,3	100

Preglednica 2: Beležke ocenjenih deležev [%] povprečne in maksimalne škode plodičev v ekoloških nasadih jabolane zaradi bukovega rilčkarja skakača v letih 2011 in 2012.

Table 2: Evaluation notes of assessed [%] average and maximum fruitlet damage in organic apple orchards due to Beech flea weevil in years 2011 to 2012.

Škoda v 2010		Škoda v 2011		Škoda v 2012	
povprečna	največja	povprečna	največja	povprečna	največja
12,5	33,5	13,0	33,5	7,2	13,50

4 RAZPRAVA

V povezavi s pričakovanji novih gradacij bukovega rilčkarja skakača sta Day in Watt v 1989 objavila rezultate dolgoletnih preučevanj populacij, a kljub beleženju nepretrgane rasti in sledečega upadanja, je dokazov o cikličnem ponavljanju premalo. Njegove selitve so težje predvidljive. Še zahtevnejše bi bilo njihovo napovedovanje. V integrirani pridelavi pečkarjev so bile v času gradacij opažene le minimalne poškodbe na listju, zaradi česar sklepamo na

stransko delovanje insekticidov, ki so v uporabi proti najpogostejšim škodljivim žuželkam aktualnega obdobja (skupini Tortricidae in Aphididae). Poleg ekološke pridelave jabolk je ogrožena tudi integrirana pridelava koščičarjev kot so breskve in češnje, saj v času naleta, ob dozorevanju plodov in upoštevanju varnostnih dob, uporaba insekticidov ni možna. Zrelotno žrtje se najprej pokriva z dozorevanjem češenj, jagodičja, višenj ter breskev. V ekološki pridelavi je varstvo zelo oteženo.

Spremljanje jabolčnega cvetožera v najbolj izpostavljenih intenzivnih ekoloških nasadih nakazuje, da se populacija sčasoma ustali, kar zaradi manjkajočih omejitvenih dejavnikov pomeni tudi vsakoletno pričakovano gospodarsko škodo.

Obema obravnavanima vrstama je skupno oteženo napovedovanje časa in jakosti napada, saj je neposredno povezano z ekološkimi razmerami v začetku vegetacijske dobe. Dosedanje praktične izkušnje nakazujejo, da se proti rilčkarjem v ekoloških nasadih do določene mere obnese odvračalni učinek povečanih odmerkov žveplovih pripravkov, žveplenoapnene brozge ali pripravkov na osnovi glin, a tržnim ekološkim pridelovalcem zadostne stopnje varstva pridelka vseeno ne nudijo (Bajec, 2012). Brez ustreznega varstva so škode v ekoloških nasadih prevelike in iz gospodarskega vidika nesprejemljive.

5 ZAHVALA

Pri izvajanju raziskave se za pomoč in sodelovanje zahvaljujemo Caf Alenki in ekološkim sadjarjem, ki so omogočili vpogled v zdravstveno stanje njihovih nasadov.

6 VIRI

- Bajec, D., 2011. Bukov rilčkar skakač (*Rhynchaenus fagi* L.) čedalje pogostejši tudi v sadnih nasadih. Sad; št. 5/2011 – letnik XXII: 2 – 3
- Bajec, D. 2012. Poročilo o napadih nekaterih vrst rilčkarjev (*Curculionidae*) v ekoloških nasadih jabolane in predlog možnih rešitev za preprečevanje nadaljnjih škod. Služba za varstvo rastlin, KGZ Novo mesto; Št. zadeve: 1096/2012; 27.05.2012
- Bajec, D., Rodič, K., Peterlin, A. 2009-11. Letna poročila o izvajanju opazovalno napovedovalne dejavnosti, KGZS - Zavod NM, Novo mesto
- Day, K.R., Watt, A.D., 1989. Population studies of the beech leaf mining weevil (*Rhynchaenus fagi*) in Ireland and Scotland. Ecological Entomology. Vol. 14, Iss. 1: 23–30
- Dieter, A. 1964. Beitrag zur Epidemiologie und Biologie des Buchenspringrüßlers *Rhynchaenus (Orchestes) fagi* L. an Obstgewächsen. Anzeiger für Schädlingkunde. Vol. 37, Iss. 11: 161-163
- Jurc, M. 2007. Zdravje gozda, Navadna bukev – *Fagus sylvatica* (L.). Žuželke in pršice na listih. Gozdarski vestnik, 65, 5-6: 199-201
- Jurc, M. 2010. Nekatere škodljive domače in tujerodne žuželke v gozdovih na območju Ljubljane. Gozdarski vestnik, 68, 5-6: str. 323
- Jurc, M. 2011. Rilčkarji (Coleoptera: Curculionidae) kot defoliorji gozdnega drevja. 2. seminar in delavnica iz varstva gozdov, 21. junij 2011, Ljubljana. Dostopno na: <http://www.zdravgozd.si/dat/dogodki/26.pdf> ;[25.03.2013]
- Meier, U., Bleiholder, H., Buhr, L., Feller, C., Hack, H., Hess, M, Klose, R., Lancashire, P.D., Strauss, R., Van den Boom, T., Weber, E., Wicke, H. 2001. Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. BBCH Monograph. 2nd Edition. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry. Dostopno na: http://www.jki.bund.de/fileadmin/dam_uploads/_veroeff/bbch/BBCH-Skala_englisch.pdf ; [25.03.2013]

KARAKTERIZACIJA SLOVENSКИH IZOLATOV *Pectobacterium* IN *Dickeya* spp. IZ KROMPIRJA

Tanja DREO¹, Tina NAGLIČ², Matjaž PETERKA³, Maja RAVNIKAR⁴

^{1,4} Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo, Ljubljana in Center odličnosti za biosenzoriko, instrumentacijo in procesno kontrolo, Solkan
^{2,3} Center odličnosti za biosenzoriko, instrumentacijo in procesno kontrolo, Solkan

IZVLEČEK

Pektinolitične bakterije rodov *Pectobacterium* in *Dickeya* spp. (ex *Erwinia chrysanthemi*) povzročajo gnitje rastlin in njihovih plodov in lahko resno vplivajo na donosnost pridelave in skladiščno kakovost krompirja. V zadnjem desetletju so bili na krompirju najpogostejši izolati *D. dianthicola*, poleg njih so se pojavljali tudi agresivnejši izolati, ki so zaenkrat neuradno poimenovani kot '*D. solani*' in so se s pomočjo distribucije semenskega krompirja razširili po večjem delu EU. Rezultati novejših raziskav iz Nizozemske in Belgije kažejo na to, da se te bakterije lahko v velikem obsegu pojavljajo in so zastopane tudi v pridelavi semenskega krompirja. Velik delež semenskega krompirja, ki se uporablja v Sloveniji, izvira iz držav, ki imajo težave z bakterijskimi mehкими gnilobami, zato ni presenetljivo, da so gnilobe pogostejše in bolj izrazite tudi pri nas. V prispevku predstavljamo karakterizacijo bakterij rodov *Dickeya* in *Pectobacterium*, ki se pojavljajo v Sloveniji, s poudarkom na izolatih iz krompirja.

Ključne besede: bakterijska gniloba, *Dickeya*, krompir, PCR v realnem času, *Pectobacterium*, sekvenciranje DNA

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF SLOVENIAN *PECTOBACTERIUM* AND *DICKEYA* ISOLATES FROM POTATO

Pectinolytic bacteria of *Pectobacterium* and *Dickeya* spp. (ex *Erwinia chrysanthemi*) cause rotting of plants and their fruits and can seriously affect the profitability of production and storage quality of potatoes. *D. dianthicola* used to be the most common species occurring in potato. In the last decade, more aggressive isolates occurred that are tentatively and informally named as '*D. solani*' and have been spread across much of the EU by seed potatoes trade. Results of recent research from the Netherlands and Belgium suggest that these bacteria occur and are spread in seed potato production. Genus *Pectobacterium* also seems to be gaining in its importance in potato production. A large proportion of seed potatoes that is used in Slovenia come from countries that have problems with bacterial soft rots and so it is not surprising that soft rots are becoming more frequent and pronounced also in our country. In this contribution we present the characterization of bacterial isolates of genera *Dickeya* and *Pectobacterium* isolated in Slovenia with an emphasis on potato isolates.

¹ dr. biotehn. znan., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana in Velika pot 22, SI-5250 Solkan

² dipl. uni. mikrobiol., Velika pot 22, SI-5250 Solkan

³ dr. mikrobiol. znan., prav tam

⁴ dr. biol. znan., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana in Velika pot 22, SI-5250 Solkan

Key words: bacterial rot, *Dickeya*, DNA sequencing, *Pectobacterium*, potato, real-time PCR

1 UVOD

Gniloba krompirjevih rastlin in gomoljev za karantenskimi boleznimi krompirja povzroča največjo ekonomsko škodo. Gnilobo lahko povzročajo različni organizmi, med bakterijskimi se najpogosteje pojavljajo vrste rodu, ki se je v preteklosti imenoval *Erwinia* t.i. erwinije mehkih gnilob. Gnitje predvsem gomoljev pa lahko povzročajo tudi nekatere druge bakterije npr. *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Aerobacter*, *Flavobacterium* in *Rhodococcus*. Vse te bakterije so sposobne oblikovati encime, ki razgrajujejo rastlinsko tkivo. *Pectobacterium* in *Dickeya* se smatrajo za najpomembnejše in najagresivnejše ter primarne patogene bakterije; medtem ko so bakterije ostalih rodov navadno sposobne le povečati razgradnjo tkiva, ko je do gnilobe že prišlo zaradi drugih vzrokov (Perombelon in Lowe, 1975).

Rod *Erwinia* je bil oblikovan leta 1920 (Winslow s sod., 1920). Sprva je veljalo, da je *Erwinia chrysanthemi* patogen krizantem (Burkholder s sod., 1953), kasneje pa se je izkazalo, da lahko okuži vrsto različnih rastlin (Samson s sod., 1987). Mnoge taksonomske spremembe tega rodu so vodile do današnje razvrstitve v rod *Pectobacterium* in *Dickeya* s šestimi podvrstami (*dianthicola*, *dadantii*, *zeae*, *chrysanthemi* (biovarja *chrysanthemi* in *parthenii*), *paradiasiaca* in *dieffenbachiae*; Samson s sod., 2005). Vrste se delno skladajo z razvrstitvijo v različne patovarje in kažejo določeno specializiranost na gostiteljske rastline. Novejše raziskave kažejo na pojav več drugih vrst rodu *Dickeya* (vključno z '*D. solani*') (Parkinson s sod., 2009; Slawiak s sod., 2009), vendar nobena od teh vrst še ni bila uradno opisana (EFSA Panel on Plant Health (PLH), 2013).

126

Izolati, ki so bili v preteklosti najpogostejši na krompirju v Evropi, večinoma pripadajo vrstam *D. dadantii*, *D. dianthicola* in *D. zeae*. Na krompirju so našli tudi izolate vrst *D. chrysanthemi* in *D. dieffenbachiae*.

V zadnjih letih se na različnih rastlinah v Evropi pojavljajo posebej agresivni izolati vrst *Dickeya*, ki so jih začasno poimenovali '*D. solani*'. Za te izolate je značilno, da gnilobe povzročajo tako pri nizkih kot tudi pri visokih temperaturah in v pogojih različne vlage. Pri višjih temperaturah (nad 27 °C) so še posebej agresivni in s svojimi encimi hitro razgrajujejo gomolje in zelene dele rastlin (Toth s sod., 2011). Podatki kažejo, da so se ti izolati s krompirjem uspešno razširili po večini Evropskih držav (Toth s sod., 2011) Poleg '*D. solani*' so v nekaterih državah opazili večjo razširjenost gnilob, ki jih povzročajo bakterije rodu *Pectobacterium*. Prihaja tudi do širjenja bakterij med različnimi rastlinami in preskoka bakterij med gostitelji, npr. z japonskega hrena na krompir (*P. wasabiae* izvorno iz *Eutrema japonica*; Pitman s sod., 2010).

Izolati vrste s starim poimenovanjem *Erwinia chrysanthemi* so se že pred desetletji močno razširili in bili zato odstranjeni s karantenskih list, diagnostične metode pa se niso razvijale naprej. Za identifikacijo izolatov v skladu z novo taksonomsko razvrstitvijo v podvrste rodu *Dickeya* klasični pristopi ne zadostujejo. Njihova pravilna identifikacija temelji na molekularnih metodah, kot so PCR v realnem času (Brierley s sod., 2008) in sekvenciranje odsekov DNA (Parkinson s sod., 2009; Slawiak s sod., 2009; Van Vaerenbergh s sod., 2012).

V prispevku opisujemo uvedbo in preverjanje izbranih metod detekcije in identifikacije in njihovo uporabo na izolatih bakterij rodov *Pectobacterium* in *Dickeya* izoliranih iz različnih gostiteljskih rastlin meduradno diagnostiko na Nacionalnem inštitutu za biologijo med leti 2001 in 2010. Poleg določanja genomskih odtisov z repetitivnim PCR (BOX-PCR; Versalovic s sod., 1994) in PCR v realnem času (Brierley s sod., 2008) smo za identifikacijo izolatov iz rodu *Dickeya* uvedli sekvenciranje gena *fliC* (Venkatesh s sod., 2006; Van Vaerenbergh s sod., 2012).

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Bakterijski izolati

V študijo smo vključili izolate bakterij mehkih gnilob iz zbirke bakterij Nacionalnega inštituta za biologijo, nekatere sorodne izolate in referenčne izolate pomembnejših vrst iz drugih zbirk. Izolati iz zbirke NIB izvirajo iz vzorcev rastlin in gomoljev z bolezenskimi znamenji, ki smo jih analizirali v okviru službe za varstvo rastlin ali jih je v zbirko deponiral mag. Andrej Potočnik (Potočnik, 1993). Bakterije smo hranili na sistemu MicroBank™ pri temperaturi pod -76 °C. Bakterije smo gojili na trdnih gojiščih King's B, PDA in CPG pri temperaturi 25-28 °C.

2.2 Izolacija DNA iz bakterij

Za izolacijo DNA smo bakterije namnožili na gojišču CPG pri temperaturi 25 °C. Čistost kulture smo preverili s pregledom morfologije zraslih kolonij. Iz kolonij smo pripravili bakterijske suspenzije v 0,01 M fosfatnem pufru z dodanim NaCl s približno koncentracijo bakterij 109 celic/mL. DNA smo iz bakterijskih suspenzij izolirali s kuhanjem in čiščenjem s Chelex-om 100 (Bio-Rad 142-2832). 1 mL bakterijske suspenzije smo vorteksirali in bakterije skoncentrirali v pelet s 5-minutnim centrifugiranjem pri 9900 g. Peletu smo nato dodali 300 µL sveže suspenzije Chelex-a v sterilni vodi (6 % w/V), vorteksirali, inkubirali 20 minut pri 56 °C, vorteksirali, inkubirali 8 minut pri 99 °C, vorteksirali 10 sekund, takoj ohladili na ledu in centrifugirali 7 minut pri 14000 g. Supernatant, ki vsebuje DNA, smo prenesli v novo mikrocentrifugirko in spektrofotometrično izmerili koncentracijo in čistost DNA (Nanodrop, ThermoScientific). DNA smo umerili na koncentracijo 25 ng/µL in do uporabe shranili zamrznjeno pod -15 °C.

2.3 Repetitivni PCR (BOX-PCR)

Generično metodo repetitivnega PCR smo izvedli po protokolu (Rademaker s sod., 1998) z uporabo BOX A1R. PCR smo izvajali na aparatu Applied Biosystems 9700 in pri tem uporabljali naslednje pogoje pomnoževanja: začetna denaturacija 2 minuti pri 95 °C, 35 ciklov iz 4 korakov (94 °C, 3 sekund; 92 °C, 30 sekund; 50 °C, 1 minuto; 65 °C, 8 minut) ter končno podaljševanje 65 °C, 8 minut. Reakcijska mešanica v skupnem volumnu 25 µL je vsebovala: 12,65 µL vode primerne za molekularno biologijo, 5 µL 5xGitschier pufer, 0,2 µL BSA (20 mg/mL), 2,5 µL DMSO (100 %), 1,25 µL dNTP (100 mM), 1 µL začetnika BOX A1R (20 µM; sekvenca), 0,4 µL Taq Platinum polimearze (5U/µL; Invitrogen) in 2 µL vzorca (DNA). Produkta PCR smo ločili s kapilarno elektroforezo z uporabo aparata Agilent 2100 Bioanalyzer in Agilent DNA 7500 chip-a. Rezultate smo analizirali s programom 2100 Expert (Agilent).

2.4 PCR v realnem času za določanje in karakterizacijo bakterij mehkih gnilob

Bakterijsko DNA smo pomnoževali s tremi različnimi PCR v realnem času, ki so bili razviti v laboratoriju FERA (Brierley s sod., 2008), v ločenih reakcijah: PEC, ECH in ECA. PEC detektira vse pektinolitične bakterije rodu *Erwinia* vključno z *Erwinia chrysanthemi* in *Erwinia carotovora* subspecies *atroseptica*, *carotovora*, *betavascularum*, *oderifera* in *wasabiae*. ECH je specifičen za *Erwinia chrysanthemi* (*Dickeya* spp.), zazna vse znane biovarje in patovarje razen *E. chrysanthemi* pv. *paradisiaca* iz banan (zdaj *Dickeya paradisiaca*). ECA je specifičen za *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Pectobacterium atrosepticum*). PCR v realnem času smo izvajali na aparatu ABI PRISM® 7900 HT Sequence Detection System (Applied Biosystems) in pri tem uporabljali univerzalne pogoje pomnoževanja [2 min 50 °C (aktivacija AmpErase® UNG), 10 min 95 °C (aktivacija AmpliTaq Gold polimearze), ki jima sled 45 ciklov sestavljenih iz dveh korakov (15 s pri 95 °C in 1 min pri 60 °C)]. Reakcijsko mešanico v skupnem volumnu 10 µL so sestavljali (končne koncentracije): 900 nm

oligonukleotidni začetniki (Eurofins MWG Operon), 200 nm sonda označena z barvilom FAM in dušilcem TAMRA (Eurofins MWG Operon), 1 × TaqMan® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems) in 2 µL DNA vzorca.

2.5 Sekvenciranje izbranih odsekov DNA (fliC)

Za analizo odnosov med izolati rodu *Dickeya* smo uporabili sekveniranje dela gena fliC (van Vaerenbergh, 2012). Fragment gena fliC smo pomnožili z oligonukleotidnimi začetniki za PCR, fliC-1 in fliC-2, ki so oblikovani na osnovi sekvence gena izolata 3937 vrste *Dickeya dadantii*. PCR smo izvajali na aparatu Applied Biosystems 9700 in pri tem uporabljali naslednje pogoje pomnoževanja: začetna denaturacija 4 minute pri 95 °C, 35 ciklov iz 3 korakov (95 °C, 30 sekund; 55 °C, 1 minuto; 72 °C, 45 sekund) ter končno podaljševanje 72 °C, 7 minut. Reakcijska mešanica v skupnem volumnu 25 µL je vsebovala: 19,8 µL vode primerne za molekularno biologijo, 2,5 µL 10xPCR reaction buffer with 20 mM MgCl₂ (Roche), 0,5 µL vsakega oligonukleotidnega začetnika (delovna koncentracija 10 µM), 0,2 µL FastStart Taq DNA polimeraze in 1 µL vzorca (izolirane DNA). PCR produkte smo ločili z nanosom celotnega reakcijskega volumna (25 µL) na 1 % agarozni gel z vključenim etidijevim bromidom. Produkta ustrezne velikosti smo izrezali iz gela in očistili z Montage Gel Extraction Kit (Millipore). Sekveniranje PCR produktov v obeh smereh smo izvedli pri GATC Biotech Lightrun Seq.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

128

V prispevku opisujemo uvedbo ter preverjanje metod detekcije in identifikacije za bakterije rodov *Pectobacterium* in *Dickeya* izoliranih iz različnih gostiteljskih rastlin med uradno diagnostiko na Nacionalnem inštitutu za biologijo med leti 2001 in 2010.

Z repetitivnim PCR smo uspeli določiti profil pri večini testiranih izolatov. Profili so bili zelo raznoliki in so omogočili razdelitev izolatov v tri večje skupine. V eni, dokaj homogeni skupini, najdemo več izolatov iz krompirja, ki so bili v Sloveniji izolirani med leti 2004 in 2009. Vsi ti izolati so bili s PCR v realnem času identificirani kot *Dickeya* spp. Homogenost profilov nakazuje, da imajo izolati zelo verjetno skupni izvor, kar se sklada z domnevo, da njihovemu širjenju botruje predvsem širjenje s semenskim krompirjem. V drugi homogeni skupini najdemo starejši izolat *P. atrosepticum* iz krompirja, dva izolata iz buč (*Pectobacterium* sp.) in izolat iz paradižnika (*Dickeya* sp.). Preostali izolati so imeli zelo raznolik profil, kar se sklada s pričakovanji in podatki iz literature. Izredna raznolikost profilov tudi pomeni, da je generična metoda BOX-PCR, ki temelji na primerjavi dobljenega profila s profili izolatov, ki naj bi predstavljali raznolikost celotnega kompleksa/vrste, manj primerna za namene diagnostike.

Repetitivni PCR (BOX-PCR) se je po pričakovanju izkazal za metodo, ki odraža veliko raznolikost bakterij teh rodov. Metoda temelji na identifikaciji novih izolatov s primerjanjem novega genskega odtisa z genskimi odtisi v naši knjižnici. Velika raznolikost določenih genskih odtisov pomeni, da je ta metoda identifikacije manj uporabna v praksi. Poleg težavne standardizacije metode, ki je nujna za ponovljivost določanja genskih odtisov, je verjetno, da bomo z analizo novih izolatov pogosto določili nove odtise, ki jih ne bomo mogli identificirati z obstoječo knjižnico. Kljub veliki raznolikosti, smo lahko z uporabo repetitivnega BOX-PCR med analiziranimi izolati identificirali dve večji skupini. To kaže na zelo verjeten skupen izvor izolatov obeh skupin.

S PCR v realnem času za določanje in razlikovanje rodov *Dickeya* in *Pectobacterium* (Brierley s sod., 2008) smo uspešno pomnožili DNA izolirano iz bakterij. Izolati, kot je npr. NIB Z 744, ki reagirajo s PEC in ECH, ne pa tudi z ECA, so identificirani kot *Dickeya* spp. Izolati, kot je NIB Z 1460, ki so pozitivni le v PEC PCR v realnem času, so identificirani kot

Pectobacterium (izločena je tudi možnost *P. atrosepticum*, ker je negativen rezultat ECA). Izolati, kot je NIB Z 1798, so identificirani kot *P. atrosepticum* in dajejo pozitiven signal tudi s PEC PCR v realnem času.

Rezultati analize s PCR v realnem času so pokazali, da trije izolati iz zbirke spadajo v vrsto *Pectobacterium atrosepticum*. Skupno osem izolatov bakterij mehkih gnilob izoliranih iz krompirja se uvršča v rod *Dickeya*, skupaj z referenčnim izolatom NIB Z 8 (NCPPB 402), ki je bil izoliran iz *Chenopodium morifolium* in izolatom iz paradižnika NIB Z 1436, ki smo ga izolirali v letu 2010. PCR v realnem času ne razlikuje med posameznimi vrstami rodu *Dickeya*, zato na osnovi teh rezultatov ne moremo zaključiti, v katero vrsto spadajo.

Sedem izolatov, ki smo jih izolirali iz krompirja v Sloveniji, se je skupaj z izolati iz drugih rastlin (buča, ciklama, krizantema) uvrstilo v rod *Pectobacterium*, pri čemer je izključena vrsta *P. atrosepticum*. Na osnovi pojavljanja tega rodu na krompirju gre najverjetneje za vrsto *Pectobacterium carotovorum*, vendar niso izključene tudi druge vrste tega rodu (npr. *P. wasabie*, *P. brasiliensis*, *P. betavascularum*)

Z analizo manjšega števila drugih bakterij, ki imajo zapis za pektinolitične encime in le-te v ustreznih razmerah tudi tvorijo, smo pokazali, da opisani PCR v realnem času z njimi ne reagirajo navzkrižno.

PCR v realnem času, ki je bil razvit še na osnovi starejše taksonomske razdelitve bakterijskih povzročiteljev mehkih gnilob, se je izkazal za zelo uporabnega za detekcijo in identifikacijo širših skupin: *P. atrosepticum*, *P. carotovorum* (vse vrste razen *P. atrosepticum*) in rodu *Dickeya*. Poleg hitre in natančne identifikacije, PCR v realnem času omogoča kvantifikacijo teh bakterij, kar bi bilo pomembno pri uvedbi metode za analizo kvalitete semenskega krompirja torej določanja koncentracije teh bakterij tudi v prikriti obliki.

129

Z uporabo PCR v realnem času smo potrdili, da so pri nas v krompirju zastopani izolati vseh treh skupin, ki jih določamo z izbranim PCR v realnem času, pri čemer smo večino izolatov iz krompirja (8/14, 57 %) identificirali kot *Dickeya* spp. V ostalih gostiteljskih rastlinah smo določili skupine *Dickeya* spp. (v enem vzorcu paradižnika) in *P. carotovorum* (buča, ciklama, krizantema; mogoče vse vrste razen *P. atrosepticum*).

Natančno identifikacijo izolatov rodu *Dickeya* do vrste je od uvedenih metod omogočila le metoda sekvenciranja dela gena *fliC* (Van Vaerenbergh s sod., 2012). Z njo smo potrdili, da je vseh sedem analiziranih izolatov *Dickeya* spp. praktično identičnih referenčnemu izolatu '*Dickeya solani*', medtem ko se na več nukleotidnih mestih razlikujejo od referenčnih izolatov ostalih vrst tega rodu. Rezultat potrjuje, da so ti, še posebej agresivni izolati, zastopani v slovenski pridelavi krompirja že vsaj od leta 2001 naprej. Identifikacija teh izolatov kot '*Dickeya solani*' se sklada s pojavljanjem izrazitejših gnilob (Anon, 2006) na poljih in kaže na pomembnost spremljanja pojavljanja novih izolatov v pridelavi krompirja.

Za razliko od ostalih molekularnih metod je metoda sekvenciranja gena *fliC* generična za ta rod in omogoča ne le detekcijo že znanih vrst temveč tudi pojav novih različkov, kot so '*Dickeya solani*' in nekateri različki iz okrasnih rastlin (UDL-3 in UDL-4).

4 SKLEPI

Rezultati potrjujejo, da so poleg rodu *Pectobacterium* v slovenski pridelavi krompirja zastopani tudi še posebej agresivni izolati iz rodu *Dickeya*, '*Dickeya solani*'. Ti se pojavljajo vsaj od leta 2001 naprej. Potrditev teh izolatov se sklada s pojavljanjem izrazitejših gnilob na poljih in kaže na pomembnost spremljanja pojavljanja novih izolatov v pridelavi krompirja.

Prilagoditev diagnostičnih in identifikacijskih metod je bila nujna za nadaljnje uspešno, zanesljivo in hitro identifikacijo vrst v skladu s spremenjeno taksonomijo, ki je bivšo vrsto *Erwinia chrysanthemi* razdelila na šest vrst znotraj rodu *Dickeya*.

5 ZAHVALA

Rastlinski material, iz katerega smo izolirali bakterije uporabljene v tej študiji, je bil nabran v okviru uradnega nadzora zdravja rastlin, ki sta ga izvajali Uprava za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin RS. Posebej se zahvaljujemo vzorčevalcema mag. Andreju Potočniku, ki je prispeval tudi nekatere referenčne izolate, in g. Marjanu Južniku in Petru Dolničarju (Kmetijski inštitut Slovenije) za vzorčenje, vse koristne informacije s terena in odgovore na vprašalnik o pojavljanju mehkih gnilob v Sloveniji v letu 2006. Za tehnično in laboratorijsko pomoč se zahvaljujemo dr. Manci Pirč, Špeli Prijatelj Novak, Lidiji Matičič, Jani Erjavec in Alešu Blatniku. Raziskavo sta financirala UVHVVR in Center odličnosti COBIK.

6 LITERATURA

- Anon. 2006. Questionnaire on *Erwinia chrysanthemi* occurrence in Slovenia.
- Brierley, J, A Lees, A Hilton, S Wade, J Peters, J Elphinstone, and N Boonham. Improving decision making for the management of potato diseases using real-time diagnostics. Final report, 2008. http://www.potato.org.uk/sites/default/files/%5Bcurrent-page%3Aarg%3A%3F%5D2008%20Diagnostics%20Final%20Report%20R253_0.pdf.
- Burkholder W, McFadden LA and Dimock E, 1953. A bacterial blight of chrysanthemums. *Phytopathology*, 43, 522–526.
- EFSA Panel on Plant Health (PLH). Scientific Opinion on the risk of *Dickeya dianthicola* for the EU territory with identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal* 2013;11 (1):3072. [115 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2013.3072. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal
- Elphinstone J, 2008. Revised investigation of *Erwinia chrysanthemi* (*Dickeya dianthicola* and other *Dickeya* spp.) able to infect potatoes. Final report. Project Report 2008/7, October 2008. Potato Council, Kenilworth, Warwickshire, UK, 30 pp.
- Parkinson N, Stead D, Bew J, Heeney J, Tsror L and Elphinstone J, 2009. *Dickeya* species relatedness and clade structure determined by comparison of recA sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, 2388–2393.
- Perombelon M, Lowe R, 1975. Studies on the initiation of bacterial soft rot in potato tubers. *Potato Research* 18, 64–82.
- Pitman AR, Harrow S, and Visnovsky SB. Genetic Characterisation of *Pectobacterium wasabiae* Causing Soft Rot Disease of Potato in New Zealand. *European Journal of Plant Pathology* 126, no. 3 (March 1, 2010): 423–435.
- Potočnik, A. Osamitev povzročiteljev krompirjeve črne noge (*Erwinia carotovora* subs. *atroseptica* in mehke gnilobe (*Erwinia carotovora* subs. *carotovora*) na kultivarjih domačega in uvoženega krompirja: Magistrsko delo. A. Potočnik, 1993.
- Samson R, Legendre JB, Christen R, Fischer-Le Saux M, Achouak W and Gardan L, 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder s. 1953) Brenner s. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 1415–1427.
- Samson R, Poutier F, Saily M and Jouan B, 1987. Characterisation of *Erwinia chrysanthemi* Strains from Potato and Other Hosts Using Biovars and Serogroups. *Bulletin OEPP*, 17, 11–16.
- Slawiak M, Beckhoven JRCMv, Speksnijder AGCL, Czajkowski R, Grabe G and Wolf JMvd, 2009. Biochemical and genetical analysis reveal a new clade of biovar 3 *Dickeya* spp. strains isolated from potato in Europe. *European Journal of Plant Pathology*. 125, 2, 245–261.
- Toth, I.K., Van der Wolf, J.M., Saddler, G., Lojkowska, E., Hélias, V., Pirhonen, M., Tsror (Lahkim), L., Elphinstone, J.G., 2011. *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology* 60, 385–399.
- Van Vaerenbergh, J., Baeyen, S., De Vos, P., Maes, M., 2012. Sequence Diversity in the *Dickeya* flkC Gene: Phylogeny of the *Dickeya* Genus and TaqMan® PCR for “*D. solani*”, New Biovar 3 Variant on Potato in Europe. *PLoS ONE* 7, e35738.
- Venkatesh, Balakrishnan, Lavanya Babujee, Hui Liu, Pete Hedley, Takashi Fujikawa, Paul Birch, Ian Toth, and Shinji Tsuyumu. “The *Erwinia chrysanthemi* 3937 PhoQ Sensor Kinase Regulates Several Virulence Determinants.” *Journal of Bacteriology* 188, no. 8 (April 15, 2006): 3088–3098. doi:10.1128/JB.188.8.3088-3098.2006.

- Versalovic, M. Schneider, F. J. De Bruijn, and J. R. Lupski. "Genomic Fingerprinting of Bacteria Using Repetitive Sequence-based Polymerase Chain Reaction." *Methods in Molecular and Cellular Biology* 5, no. 1 (1994): 25–40.
- Winslow CEA, Broadhurst J, Buchanan R, Krumwiede Jr C, Rogers L and Smith G, 1920. The families and genera of the bacteria. Final report of the Committee of the Society of American Bacteriologists on Characterisation and Classification of Bacterial Types. *Journal of Bacteriology*, 5, 191–229.

NARAVNE PROTIMIKROBNE SNOVI IN MIKROORGANIZMI KOT SREDSTVA ZA VARSTVO RASTLIN

Jana ERJAVEC¹, Tanja DREO², Jože BRZIN³, Jerica SABOTIČ⁴, Maja RAVNIKAR⁵

¹Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana

²Inštitut Jožef Stefan, Ljubljana

V naravi najdemo številne vire protimikrobnih snovi, kot so na primer rastline, glive in bakterije, varstvo pa lahko nudijo tudi mikroorganizmi sami ter s svojo zastopanostjo preprečujejo razvoj bolezni in celo vzpodbujajo rast rastlin. Na trgu je registriranih že kar nekaj biotičnih sredstev za varstvo rastlin, ki nadomeščajo ali dopolnjujejo konvencionalna sredstva in s tem varujejo rastline na naraven in okolju prijazen način. Razvoj naravnih sredstev za varstvo rastlin je še posebej pomemben v primeru, ko ne poznamo učinkovitega sredstva za zatiranje patogenih mikrobov ali škodljivcev ali pa so ti razvili odpornost na že obstoječe pesticide. V naši raziskavi proučujemo vpliv ekstraktov višjih (bazidiomicetnih) gliv prostotrosnic oziroma gob na rastlinske patogene bakterije, med drugim na bakterijo *Ralstonia solanacearum*, ki povzroča rjavo gnilobo krompirja in bolezen na številnih drugih gospodarsko pomembnih rastlinah.

Ključne besede: *Ralstonia solanacearum*, bakterijsko venenje, glive, gobe, protein, inhibicija

ABSTRACT

132

ANTIMICROBIAL SUBSTANCES FROM NATURAL SOURCES AND MICROORGANISMS CAN BE USED FOR PLANT PROTECTION AGAINST PATHOGENS

Natural sources of antimicrobial substances, such as plants, fungi and bacteria, can prevent disease development and even promote plant growth. There are several biopesticides already registered on the market and even more are pending. They can replace or complement existing pesticides and protect plants without any major effect on the environment. Development of biopesticides is especially important in cases where there are no pesticides available for the control of the pest or pests developed resistance to the existing control agents. In our research we are testing mushroom extracts against plant pathogenic bacteria, including *Ralstonia solanacearum*, the causative agent of a quarantine brown rot disease of potatoes and other plants, and several other plant pathogenic bacteria.

Keywords: *Ralstonia solanacearum*, bacterial wilt, fungi, protein, inhibition

1 UVOD

Rastlinske bolezni so še vedno med najbolj omejujočimi dejavniki kmetijske pridelave. Poleg uporabe sintetičnih pesticidov se vse več aktivnosti usmerja v iskanje naravnih učinkovin za varstvo rastlin. Do sedaj so že izolirali številne snovi s protimikrobnim delovanjem iz različnih naravnih virov kot so živali, rastline, bakterije in nižje glive. Čeprav obstajajo podatki o višjih glivah iz debla Basidiomycota - gobah kot možnem viru novih in uporabnih

¹ univ. dipl. mikr., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana; e-mail: jana.erjavec@nib.si

² dr., prav tam

³ dr., prav tam

⁴ dr., prav tam

⁵ prof. dr., prav tam

spojin, je dejanskih raziskav takih spojin izjemno malo. Gobe so kot vir protimikrobnih snovi zanimive tudi z vidika biotehnoške proizvodnje, saj bi take snovi lahko pridobivali iz gojenih gob ali iz micelija gojenega v fermentorju (Erjavec *et al.*, 2012).

Ena najpomembnejših evropskih karantenskih bakterij, ki okužuje krompir in druge kmetijsko pomembne razhudnikovke, je po Gramu negativna bakterija *Ralstonia solanacearum* (Smith, 1896) Yabuuchi *et al.* Povzročča rjavo gnilobo krompirja in venenje razhudnikovk. Ker odporne sorte proti *R. solanacearum* do sedaj niso znane, lahko bakterija ob neučinkovitih konvencionalnih pristopih nadzora bolezní povzroči tudi do 100 % izgubo pridelka. *R. solanacearum* ima zelo širok krog gostiteljev, ki obsega prek 200 vrst rastlin, vključno s pomembnimi poljščinami kot so krompir, banane, tobak, ingver, paradižnik in jajčevci. Dolgo časa lahko preživi v vlažnih tleh ter vodi, zato so namakalne vode pogosto vzrok širjenja okužbe (Janse *et al.*, 2004). Ker ne poznamo učinkovitega protibakterijskega sredstva za zatiranje *R. solanacearum* in številnih drugih škodljivcev, je iskanje novih protimikrobnih snovi iz naravnih virov zelo pomembno.

V prispevku bomo predstavili nekatere naravne in sintetične protimikrobne snovi kot potencialne učinkovine za zatiranje rjave gnilobe krompirja in drugih rastlinskih bolezní, metode iskanja protibakterijskih snovi ter metode identifikacije biotičnih aktivnih beljakovin. Med njimi bomo poudarili pomen gob iz debla *Basidiomycota*, kot potencialnemu neraziskanemu viru novih protibakterijskih snovi.

2 MATERIALI IN METODE

Osnovna metoda za testiranje učinkovitosti protimikrobnih snovi je metoda minimalne inhibitorne koncentracije (MIC). MIC predstavlja najmanjšo koncentracijo protimikrobne snovi (mg/L), ki v nadzorovanih razmerah in v določenem časovnem intervalu prepreči vidno rast mikroorganizmov (EUCAST - European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2003). V mikrotitrsko ploščico tako nanesemo suspenzijo bakterij katere koncentracijo poznamo ter različne koncentracije ustreznega redčenega protimikrobnega sredstva. Drug način testiranja protibakterijske aktivnosti na gojiščih je test cone inhibicije, pri katerem na gojišče gosto nacepimo bakterijsko kulturo in na površino postavimo sterilne diske iz filter papirja. Na diske nato nanesemo znano koncentracijo inhibitorne substance in po izbranem časovnem intervalu inkubacije izmerimo premer cone inhibicije in meritev primerjamo s standardom (npr. znana koncentracije antibiotika). Podobno kot se medicinske zdravilne učinkovine po potrditvi delovanja *in vitro* v kasnejših fazah testira tudi na celičnih kulturah in potem še na ljudeh, je prav tako pomembno, da testiramo protimikrobne snovi proti rastlinskim patogenim bakterijam v rastlinah, na rastlinskih celičnih kulturah in kasneje še na humanih celičnih kulturah, sploh če je substanca zanimiva za transformacijo rastlin. Tudi pri raziskavah na rastlinah so namreč pogosto opazili, da *in vitro* inhibitorna aktivnost ne pomeni, da bo substanca enako učinkovita tudi *in vivo* (Badosa *et al.*, 2007).

Za identifikacijo novih snovi je zelo pomembna metoda masne spektrometrije (MS). Pri tej metodi se meritve izvajajo z ioniziranimi molekulami v plinski fazi. Obstaja več načinov identifikacije beljakovin z MS. Beljakovino nato z orodji bioinformatike identificiramo na podlagi mas peptidov in sicer s pomočjo eksperimentalno pridobljenih podatkovnih baz beljakovin ali pa teoretično iz zaporedja genoma. Poleg MS poteka identifikacija in karakterizacija beljakovin tudi s številnimi elektroforezami in kromatografskimi metodami.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Glede na vse večje zahteve po razvoju okoljsko trajnostnih sistemov pri nadzoru povzročiteljev rastlinskih bolezní, ki bi bili nadomestili ali dopolnjevali kemična sredstva za varstvo rastlin, postaja iskanje naravnih učinkovin s protimikrobnim delovanjem vedno bolj

aktualno. Vir protimikrobnih snovi so kar mikroorganizmi sami. Presejalne analize mikrobnih izolatov so v zadnjih 50 letih vodile do številnih tržno dosegljivih biotičnih molekul. Poleg tega raziskave v mikrobnih ekologiji kažejo, da je mikrobnost raznolikost v naravi mnogo večja od tiste zbrane v laboratorijskih zbirkah sevov mikroorganizmov.

3.1 Rastlinske protimikrobne snovi

Poleg mikroorganizmov so potencialen vir naravnih protimikrobnih snovi tudi rastline. Večina je sekundarnih metabolitov, nekateri dajejo rastlinam značilen vonj ali okus, hkrati pa služijo tudi kot del obrambnega sistema proti fitopatogenim mikroorganizmom in rastlinskim škodljivcem. Rastlinske protimikrobne snovi lahko razdelimo v nekaj večjih skupin, in sicer fenolne spojine ter njihove derivate, terpenoide in eterična olja, alkaloidi, beljakovine in polipeptidi, poliacetilene in mešanice, kot so na primer mlečki (Murphy Cowan 1999). Alicin, ki se sintetizira ob poškodbi tkiva česna, je že dalj časa znan po širokem spektru delovanja na različne encime rastlinskih povzročiteljev bolezni. Inhibira lahko številne encime, kot so holin esteraza, glioksilaza, alkohol dehidrogenaza in druge (Curtis *et al.*, 2004).

Pradhanang in sodelavci (Pradhanang *et al.*, 2010) so preverjali učinek eteričnih olj na fitopatogeno bakterijo *R. solanacearum*. Za najbolj učinkovitega se je v testu patogenosti izkazal timol iz eteričnega olja timijana, saj po aplikaciji timola v kontaminirana tla iz rastlin paradiznika niso izolirali bakterij *R. solanacearum*, kljub temu, da je bil začetni inokulum bakterij v tleh skoraj 10^9 CFU/mL. Zaradi inhibitorne aktivnosti timola so preverjali tudi njegovo učinkovitost v poljskih poskusih (biofumigacija), v katerih je bil odstotek uvelih rastlin precej nižji v primerjavi s pozitivno kontrolo (Ji *et al.*, 2005). Biofumigacija tal je eden od možnih načinov preprečitve okužbe z *R. solanacearum*, saj bi jo na ta način uničili že v tleh, preden bi pridelali posadili.

Pomembne rastlinske inhibitorne substance so tudi lektini, to so beljakovine, ki povratno vežejo specifični monosaharid oziroma oligosaharid. Ker so slednji navadno zastopani v membranah različnih mikrobnih celic, se lektini na njih vežejo in povzročijo aglutinacijo celic. Posebno pri gibljivih bakterijah je aglutinacija pomemben obrambni mehanizem, saj se s tem njihova gibljivost močno zmanjša, posledično pa tudi patogenost (Peumans and Van Damme 1995). Poleg lektinov med beljakovinske inhibitorne substance spadajo tudi inhibitorji proteaz. Njihove tarče predstavljajo proteolitični virulencijski faktorji rastlinskih patogenih bakterij, gliv, parazitov in virusov, ter tako preprečijo delovanje mikrobnih proteaz pri pridobivanju hranil in izogibanju rastlinskemu obrambnemu sistemu. Poleg tega rastlinski proteazni inhibitorji delujejo tudi na prebavne encime drugih škodljivcev (npr. žuželk, pršic, polžev) in tako negativno vplivajo na njihovo rast in razvoj (Sabotic and Kos 2012). V številnih raziskavah so uporabili rastlinske gene, ki nosijo zapis za proteazne inhibitorje za transformacijo v nove rastline. Dobili so transgene rastline, ki so izražale proteazni inhibitor z instekticidnim učinkom (Ussuf *et al.*, 2001). Podobno so transgene rastline, ki so izražale različne proteazne inhibitorje pokazale negativne učinke na rast pršic, polžev, ogorčic, ter fitopatogenih gliv, bakterij in virusov (Sabotic & Kos 2012).

3.2 Sintetične protimikrobne snovi

Podobne raziskave, ki so vključevale transformacijo rastlin so potekale tudi na podlagi sintetičnih protimikrobnih molekul in proteinaznih inhibitorjev višjih organizmov. Še posebno zanimiv je cecropin B, pridobljen iz sviloprejk, saj inhibira tako po Gramu pozitivne kot po Gramu negativne bakterije. Njegova protibakterijska aktivnost je bila že znana v *in vitro* testih (Nishikawa and Ogawa, 2004), Oard in Enright (Oard and Enright, 2006) pa sta jo potrdila

tudi s transformacijo rastlin *Arabidopsis*. V zadnjih letih je bilo nekaj pozornosti namenjene tudi kratkim peptidom, ki naj bi imeli protibakterijske učinke. Badosa in sod. (2007) so oblikovali knjižnico kratkih peptidov podobnih tistim, ki so kazali *in vitro* inhibitorno aktivnosti proti bakteriji *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* *pv. syringae* in *Xanthomonas axonopodis* *pv. vesicatoria*, hkrati pa so imeli nizko hemolitično aktivnost. Med raziskavo so ugotovili, da ni vedno korelacije med *in vitro* in *in vivo* inhibitornim učinkom, zato so za testiranje *in vivo* pripravili širši nabor peptidov. Pri nekaterih so opazili zaviranje napredovanja bolezenskih znamenj.

3.3 Protimikrobne snovi iz višjih gliv

V smislu iskanja protimikrobnih učinkovin so še posebej slabo zastopane višje glive iz debla Basidiomycota – gobe. Med predvidenimi 140 000 vrstami gob na Zemlji jih poznamo največ 20 000 (Erjavec *et al.*, 2012). Tudi če bi bil delež uporabnih aktivnih snovi v teh vrstah zelo majhen, še vedno predstavlja velikansko zalogo potencialnih protimikrobnih snovi. Dosedanje raziskave kažejo, da imajo učinkovine iz gob protibakterijske, protivirusne, imunosupresivne, protitumorske, protivnetne in druge lastnosti (Lindequist *et al.*, 2005; Rana *et al.*, 2011). Večino učinkovin iz gob lahko pridobimo iz plodišč (80%) ali pa iz micelija z gojenjem v fermentorjih (20%) (Lindequist *et al.*, 2005). Protimikrobne snovi iz gob običajno razdelimo na manjše sekundarne metabolite in visoko molekularne polisaharide iz glivne celične stene (Zjawiony 2004). Z uporabnega stališča so še posebej zanimive tiste učinkovine, ki hkrati delujejo proti bakterijam odpornim proti več antibiotikom in tiste, ki delujejo proti več vrstam bakterij. Tak primer je goba *Osmoporus odoratus* in gobe *Ganoderma* spp., saj vsebujejo ganomicin A in B, ki inhibitorno delujeta proti bakterijam *Staphylococcus aureus*, odpornim proti meticilinu, bakterijam *Bacillus subtilis*, *Micrococcus flavus* in različnim bakterijam, ki povzročajo kožna obolenja (Albino Smania *et al.*, 2007). Oksalična kislina, ki jo sintetizira *Lentinula edodes* (šiitake) ima protimikroben učinek proti bakterijam *S. aureus* in nekaterim drugim bakterijam (Hiroko Hasegawa *et al.*, 2005), protimikrobni učinki gobe *Podaxis pistillaris* pa se izkoriščajo v nekaterih deželah proti kožnim izpuščajem in opeklina (Al-Fatimi *et al.*, 2006). Druge protibakterijske snovi so na primer še merulinična kislina A, B, C iz gobe *Merulius tremellosus* in *Phlebia radiata*, koriolin, desoksihipnofilin, hipnofilin, strobilurini, itn. (Zjawiony, 2004).

Naše preliminarne raziskave nakazujejo, da so snovi iz gob s protibakterijskim delovanjem beljakovine. Primer take protimikrobne snovi je lektin CNL z nematocidnim učinkom, ki ga sintetizira gliva *Clitocybe nebularis* (Pohleven *et al.*, 2012). Protimikrobne učinke lektinov višjih gliv so povzeli (Bleuler-Martinez *et al.*, 2011). Večina teh snovi je testiranih le proti človeškim patogenim bakterijam in glivam, vsekakor pa bili zanimivi rezultati testiranje proti rastlinskim patogenim bakterijam, med drugim tudi bakteriji *R. solanacearum*. V primeru rastlinskih patogenih bakterij bi bile, podobno kot pri ljudeh, še posebno zanimive snovi, ki bi izboljšale naravne obrambne mehanizme, ki bi direktno vplivale na bakterijske virulencne faktorje ali kako drugače preprečile razvoj bolezenskih znamenj in izgubo pridelka.

4 SKLEPI

V smislu iskanja okolju prijaznejših alternativnih načinov upravljanja z rastlinskimi patogenimi bakterijami, so že dobro proučeni različni viri protimikrobnih snovi, kot so živali, rastline, bakterije in višje glive, medtem ko so bile gobe – glive iz debla Basidiomycota le malokrat predmet tovrstnih raziskav. V preglednem članku Erjavec *et al.* (2012), je zbran celovit pregled znanih proteinov iz višjih gliv oziroma gob, saj številni proteini, vključno z lektini, lignocelulitičnimi encimi, inhibitorji proteaz in hidrofobini, kažejo edinstvene

lastnosti. Množična proizvodnja in industrijska uporaba nekaterih glivnih beljakovin kaže na njihovo uporabnost v številnih biotehnoloških procesih. V članku so med drugim opisani procesi pridobivanja novih biotično aktivnih beljakovin in pregled trenutne in predvidene uporabe teh proteinov v biotehnologiji, medicini in kmetijstvu. Beljakovine iz gob tako lahko predstavljajo rešitve za nekatere težave, kot so mikrobne odpornost na zdravila, zaščita poljščin pred škodljivci in zahteve po obnovljivih virih energije.

5 LITERATURA

- Al-Fatimi, M. A. A., Jürlich, W.-D., Jansen, R., & Lindequist, U. Bioactive components of the traditionally used mushroom *Podaxis pistillaris*. *eCAM* 3[1], 87-92. 2006.
- Albino Smania, E. d. F., Delle Monache, F., Yunes, R. A., Paulert, R., & Smania Junior, A. Antimicrobial activity of methyl australate from *Ganoderma australe*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 17[1], 14-16. 2007.
- Badosa, E., Ferre, R., Planas, M., Feliu, L., Besalu, E., Cabrefiga, J., Bardaji, E., & Montesinos, E. A library of linear undecapeptides with bactericidal activity against phytopathogenic bacteria. *Peptides* 28, 2276-2285. 2007.
- Bleuler-Martinez, S., Butschi, A., Garbani, M., Walti, M.A., Wohlschlager, T., Potthoff, E., Sabotic, J., Pohleven, J., Luthy, P., Hengartner, M.O., Aebi, M., & Kunzler, M. 2011. A lectin-mediated resistance of higher fungi against predators and parasites., 2011/04/14, (14) 3056-3070
- Curtis, H., Noll, U., Störmann, J., & Slusarenko, A. J. Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum* L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Omycetes. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 65, 79-89. 2004.
- Erjavec, J., Kos, J., Ravnikar, M., Dreo, T., & Sabotic, J. Proteins of higher fungi - from forest to application. *Trends in Biotechnology* 30[5], 259-273. 2012.
- EUCAST - European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *ESCMID* 9, 1-7. 2003.
- Hiroko Hasegawa, R., Megumi Kasuya, M. C., & Dantas Vanetti, M. C. Growth and antibacterial activity of *Lentinula edodes* in liquid media supplemented with agricultural wastes. *Electronic Journal of Biotechnology* 8[2], 211-217. 2005. 14-5-2010.
- Janse, J. D., van den Beld, H. E., Elphinstone, J., Simpkins, S., Tjou-Tam-Sin, N. N. A., & van Vaerenbergh, J. Introduction to Europe of *Ralstonia solanacearum* biovar 2, race 3 in *Pelargonium zonale* cuttings. *Journal of Plant Pathology* 86[2], 1147-1155. 2004.
- Ji, P., Momol, M. T., Olson, S. M., & Pradhanang, P. M. Evaluation of Thymol as Biofumigant for Control of Bacterial Wilt of Tomato Under Filed Conditions. *Plant Disease* [89], 497-500. 2005.
- Lindequist, U., Niedermeyer, T.H.J., & Julich, W.D. 2005. The Pharmacological Potential of Mushrooms. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2, (3) 285-299
- Murphy Cowan, M. Plant Products as Antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12[4], 564-582. 1999
- Nishikawa, M. & Ogawa, K. Antimicrobial Activity of a Chelatable Poly(Arginyl-Histidine) Produced by the Ergot Fungus *Verticillium kibiense*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48[1], 229-235. 2004.
- Oard, S.V. & Enright, F.M. 2006. Expression of the antimicrobial peptides in plants to control phytopathogenic bacteria and fungi. *Plant Cell Rep*, 25, 561-572
- Peumans, W. J. & Van Damme, E. J. M. Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiol.* 109, 347-352. 1995.
- Pohleven, J., Renko, M., Magister, Š., Smith, D.F., Kuzler, M., Štrukelj, B., Turk, D., Kos, J., & Sabotic, J. 2012. Bivalent Carbohydrate Binding Is Required for Biological Activity of *Clitocybe nebularis* Lectin (CNL), the N,NGÇ--Diacyllactosediamine (GalNAc+-1GÇô4GlcNAc, LacdiNAc)-specific Lectin from Basidiomycete *C. nebularis*. *Journal of Biological Chemistry*, 287, (13) 10602-10612
- Pradhanang, P. M., Momol, M. T., Olson, S. M., & Jones, J. B. Effects of Plant Essential Oils on *Ralstonia solanacearum* Population Density and Bacterial Wilt Incidence in Tomato. *Plant Disease* [87], 423-427. 2010.
- Rana, T., Bera, A.K., Das, S., Bhattacharya, D., Pan, D., Bandyopadhyay, S., De, S., & Das, S.K. 2011. Mushroom lectin protects arsenic induced apoptosis in hepatocytes of rodents., 2010/05/29, (4) 307-317

- Sabotic, J. & Kos, J. 2012. Microbial and fungal protease inhibitors - current and potential applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 93, (4) 1351-1375
- Ussuf, K. K., Laxmi, N. H., & Mitra, R. Proteinase inhibitors: Plant-derived genes of insecticidal protein for developing insect-resistant transgenic plants. *Current Science* 80[7], 847-853. 2001.
- Zjawiony, J. K. Biologically Active Compounds from Aphylophorales (Polypore) Fungi. *J.Nat.Prod.* 67, 300-310. 2004.

BIOTIČNA UČINKOVITOST NEKATERIH INSEKTICIDOV ZA ZATIRANJE STRUN IZ RODU *Agriotes* V KROMPIRJU

Igor ZIDARIČ¹, Peter DOLNIČAR², Gregor UREK³

^{1,2,3} Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

IZVLEČEK

V zadnjih letih opazamo vse večji nalet hroščev pokalic iz rodu *Agriotes* (Elateridae), katerih ličinke (strune) povzročajo škodo na različnih gojenih rastlinah. Razvojni krog pokalic iz rodu *Agriotes* je med 3 in 5 let. Strune povzročajo največjo škodo v zadnjih dveh letih razvoja. Zatiranje strun je zelo zahtevno, med drugim tudi zato, ker ni na voljo dovolj učinkovitih insekticidov. Nova sredstva tudi zaradi okoljskih omejitev pogosto ne dobijo potrebnega dovoljenja za uporabo. V letu 2011 smo preučevali zatiranje strun v krompirju, pri katerem še posebej pri poznih sortah na težkih tleh povzročajo zelo veliko gospodarsko škodo. Za poskus smo izbrali ustrezno njivo, kjer so strune povzročale gospodarsko škodo. Za napovedovanje pojava strun oziroma intenzivnosti napada smo na izbrani njivi v predhodnem letu posadili radič in ugotavljali poškodbe, ki so jih povzročile strune. Poskus je bil zasnovan v štirih ponovitvah po shemi popolnih naključnih blokov. Ob saditvi krompirja smo uporabili aktivne snovi fipronil (0,5 %), foksim (5 %) in teflutrin (0,15 %) ter glivo *Baeauveria bassiana*, soj ATCC 74040 (7,16%). Poškodovanost gomoljev smo ocenili, v skladu z Eppo PP 1/46 (3) smernico, po izkopu krompirja in izračunali učinkovitost posameznih insekticidov. Opravili smo tudi analizo variance in LSD »least significant difference« razvrstitveni test. Med posameznimi postopki smo ugotovili statistično značilne razlike. Najučinkovitejše je bilo sredstvo z aktivno snovjo fipronil, poškodovanih je bilo le 22,75 % gomoljev medtem, ko je bilo pri kontroli poškodovanih 94,5 % gomoljev. Ostala sredstva so bila precej slabša. Pri postopkih z aktivno snovjo teflutrin je bilo poškodovanih 82,25 %, foksim 88 % in *B. bassiana* 92,5 % gomoljev.

Ključne besede: strune, krompir, insekticidi

ABSTRACT

THE BIOLOGICAL EFFICACY OF SOME INSECTICIDES FOR SUPPRESSION OF *Agriotes* WIREWORMS IN POTATO

In recent years, the number of adult wireworms (click beetles) of the genus *Agriotes* (Elateridae) is increasing in Slovenia. Wireworms cause damage on different agricultural crops. Their life cycle may require 3 to 5 years to complete. Wireworms are a very serious pest that causes severe damages in the last two years of their life cycle. Wireworm management is very complex and difficult, because of very limited range of available effective insecticides. The number of registered pesticides is decreasing due to environmental restrictions in a very complex and complicated registration process. Since severe wireworm damages are reported on potato crops especially on heavy soils, wireworm management field experiment was conducted in potato in 2011. According to the infestation of chicory planted in previous year, the field with high population of wireworms was selected. Four different active substances were applied at planting: fipronil (0.5 %), foxim (5 %) and

¹ dipl. ing. agr., Hacquetova ulica 17, 1000 Ljubljana

² mag. univ. dipl. ing agr., prav tam

³ dr. univ. dipl. ing. agr., prav tam

tefluthrin (0.15 %) and fungus *Baeauveria bassiana* strain ATCC 74040 (7.16 %) in a complete randomized block design with four repetitions. The tuber damage and insecticides efficiency were estimated after harvest using EPPO PP 1/46 (3) guidelines. The analysis of variance and least significant difference (LSD) test were performed. There were significant differences between treatments. The most effective active substance was fipronil where 22.75 % of tubers were damaged by wireworms compared to untreated control where 94.5 % of tubers were damaged. The remaining treatments were significantly less effective. In the treatments of tefluthrin, foxim and *Baeauveria bassiana* 82.25 %, 88 % and 92.5 % of tubers were damaged, respectively.

Key words: wireworms, potato, insecticides

1 UVOD

Strune so ličinke hroščev pokalic iz rodu *Agriotes* (Elateridae) in povzročajo škodo na različnih gojenih rastlinah. V Sloveniji je znanih 10 vrst hroščev pokalic iz rodu *Agriotes* (Gomboc in Milevoj, 2001; Gomboc in sod., 2002). Njihov razvojni krog je med 3 in 5 let, največjo škodo pa povzročajo ličinke (strune) v zadnjih dveh letih razvoja. Njihovo zatiranje je zahtevno in omejeno na uporabo talnih insekticidov ali tretiranega semena. Za uspešno in okoljsko sprejemljivo zatiranje je potrebno oceniti populacijo ličink v tleh. Strune zatiramo le tam, kjer je to potrebno (Gomboc in sod., 2002). Zaradi okoljskih in ekotoksikoloških omejitev učinkovita fitofarmaceutvska sredstva pogosto ne dobijo potrebnega dovoljenja za uporabo. V letu 2011 smo zato preučevali zatiranje strun v krompirju, pri katerem še posebej pri poznih sortah na težkih tleh povzročajo zelo veliko gospodarsko škodo. Krompir v Sloveniji pridelujemo na manj kot 4000 ha njiv. V preteklosti je bila samooskrba krompirja v normalnih pridelovalnih okoliščinah blizu 100 %, v zadnjih letih pa je le 63 % (Stat., 2012). Razlog za zniževanje samooskrbe so poleg zmanjšane obsega pridelave tudi nekateri omejitveni dejavniki med katerimi velja omeniti tudi visoko populacijo strun na mnogih njivah in majhen izbor učinkovitih insekticidov za njihovo zatiranje.

2 MATERIALI IN METODE DELA

Za poskus smo izbrali njivo v okolici Ljubljane na Fužinah, kjer so strune v preteklih letih že povzročale gospodarsko škodo. Njivo na kateri smo izvedli poskus, smo izbrali na temelju določitve potencialnega napada strun. 20. julija 2010 smo na poskusni površini posejali radič. Posejali smo 20 vrst dolžine 30 m z medvrstno razdaljo 70 cm. Oktobra smo ugotavljali škodo, ki so jo povzročile strune. Milevoj in sod. (2005) navajajo, da je v okolici Ljubljane dominantna vrsta *A. lineatus*. V poskusu v letu 2011 smo primerjali učinkovitost 4 insekticidov, ki se v Evropi uporabljajo za zatiranje strun. Teflutrin in *Baeauveria bassiana* sta v Sloveniji registrirana. Foksimu je v letu 2011 potekla registracija, fipronil pa pri nas za zatiranje strun ni bil registriran nikoli. Za izvedbo poskusov, v okviru katerih smo uporabljali neregistrirane a. s. smo pridobili ustrezno dovoljenje. Poskus je bil zasnovan po shemi naključnih blokov v 4 ponovitvah. Za saditev smo uporabili slovensko sorto krompirja KIS Mura.

Sredstva za zatiranje strun smo uporabili ob sajenju krompirja 21.4.2011. Sredstva v granulirani obliki smo enakomerno potrosili in pripravljene razore, kamor smo nato posadili krompir. *B. bassiana* smo z nahrbtno oprtno škropilnico SOLO 425 nanесли neposredno na gomolje, pri čemer smo uporabili 400 l/ha vode. Krompir smo nato zagrnili. Pred vznikom krompirja smo uporabili tudi herbicid Stomp 400 SC v odmerku 4 l/ha. Proti koloradskemu hrošču smo škropili enkrat z insekticidom Calypso SC 480 v odmerku 0,1 l/ha. Proti krompirjevi plesni nismo škropili, saj je sorta KIS Mura precej odporna proti tej bolezn.

Preglednica 1: Uporabljeni insekticidi oz. aktivne snovi in njihovi odmerki

Št. postopka	Aktivna snov	Formulacija	Priporočeni odmerek (l/ha; kg/ha)
1	fipronil (0,5%)	G	10
2	<i>Baeauveria bassiana</i> soj ATCC 74040 (7,16%)	OD	3
3	teflutrin (0,15%)	G	7
4	foksim (5%)	G	30
5	kontrola	-	-

Izkop krompirja je potekal 6. 9. 2011. Vse gomolje iz posamezne poskusne parcele smo pobrali v vreče in jih označili. Poškodovanost krompirja smo ocenili 9. 9. 2011. Iz vsake poskusne parcelice smo naključno izbrali po 100 gomoljev merkantilne velikosti (debelina 40 - 60 mm) in jih ocenili oziroma razvrstili v ustrezne razrede poškodovanosti. Ocenjevanje poškodb zaradi strun smo opravili na temelju EPPO smernic (EPPO, 2005).

Preglednica 2: Razredi poškodovanosti gomoljev

Št. poškodb na gomolj	Razred poškodovanosti
0	1 (nepoškodovani)
1-2	2 (malo poškodb)
3-4	3 (srednje poškodb)
več kot 5	4 (veliko poškodb)

140

Učinkovitost insekticidov smo izračunali z opisno statistiko in analizo variance (ANOVA) ob uporabi LSD testa (Least significant difference) pri 95 % stopnji zaupanja. V okviru ocenjevanja učinkovitosti med rastno dobo krompirja smo se osredotočili tudi na spremembe zaradi fitotoksičnega delovanja fitofarmaceutskih sredstev. Opravili smo tudi analizo ostankov fitofarmaceutskih sredstev.

Med poskusom nismo zaznali ekstremnih vremenskih pojavov, ki bi lahko vplivali na izvedbo ali rezultate poskusa.

3 REZULTATI

V okviru zastavljenega poskusa smo ugotovili, da so strune poškodovale sadike radiča na skupni dolžini 550 m, kar predstavlja skoraj 92 % škodo.

V preglednici 3 so predstavljeni rezultati poskusa, ki smo jih pridobili na temelju vizualne ocene. Najmanj poškodovanih gomoljev, 22,75 % je bilo pri postopku 1 (fipronil), medtem ko je bilo pri kontroli poškodovanih 94,5 % gomoljev. Pri postopku 3 (teflutrin) je bilo poškodovanih 82,25 %, pri postopku 4 (foksim) 88 % in pri postopku 2 (*B. bassiana*) 92,5 % gomoljev.

Izračunali smo tudi učinkovitost v poskusu uporabljenih aktivnih snovi. Učinkovitost smo predstavili kot razmerje med nepoškodovanimi in poškodovanimi gomolji. Ovrednotili smo število vseh poškodb na gomoljih, gomolje pa smo glede na intenzivnost poškodb razvrstili v razrede. Z analizo variance smo ugotavljali razlike med posameznimi postopki.

Najboljšo učinkovitost smo zaznali pri postopku 1 (fipronil) (75,93 %); učinkovitost pri ostalih postopkih je bila statistično značilno slabša. Učinkovitost teflutrina (postopek 3) in foksim (postopek 4) je bila 12,96 oz. 6,88 %. Z uporabo fipronila (postopek 1) smo dosegli,

da se je število poškodb zmanjšalo za 95,59 %. Ostali postopki so bili slabši. Pri postopkih 3 (teflutrin) in 4 (foksim) smo zaznali 54,35 oz. 37,52 % učinkovitost; statistično značilnih medsebojnih razlik nismo ugotovili. Uporaba *B. bassiana* se je za zatiranje strun v krompirju izkazala kot neučinkovita, saj se rezultati statistično značilno niso razlikovali od kontrole.

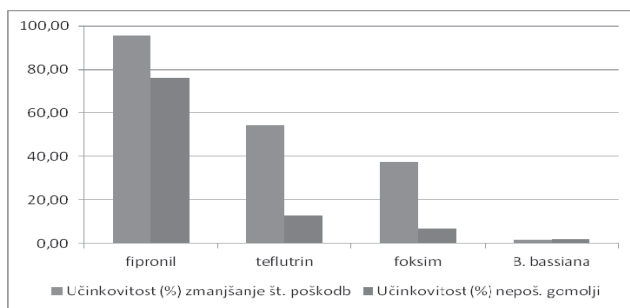
Preglednica 3: Rezultati vizualnega ocenjevanja poškodovanosti gomoljev

Št. postopka	Aktivna snov	Nepošk. gomolji	Malo poškodb	Srednje poškodb	Veliko poškodb	Poškod. skupaj	Poškodovani (%)
1	fipronil	309	55	25	11	91	22,75
2	<i>B. bassiana</i>	30	53	46	271	370	92,5
3	teflutrin	71	63	65	201	329	82,25
4	foksim	48	89	51	212	352	88
5	kontrola	22	43	69	266	378	94,5

Preglednica 4: Prikaz odstotka nepoškodovanih gomoljev, števila vseh poškodb na gomoljih, učinkovitosti posameznega postopka in prikaz homogenosti skupin ($P \leq 0,05$)

Št. postopka	Insekticid	Nepoškodovani gomolji (%)	Učinkovitost (%) nepošk. gomoljev	Št. vseh poškodb na gomoljih	Učinkovitost (%) zmanjšanja št. poškodb
1	fipronil	77,25	75,93 a	262	95,59 a
3	teflutrin	17,75	12,96 b	2714	54,35 b
4	foksim	12,00	6,88 bc	3715	37,52 b
2	<i>B. bassiana</i>	7,50	2,12 cd	5838	1,82 c
	kontrola	5,50	- d	5945	- c

141

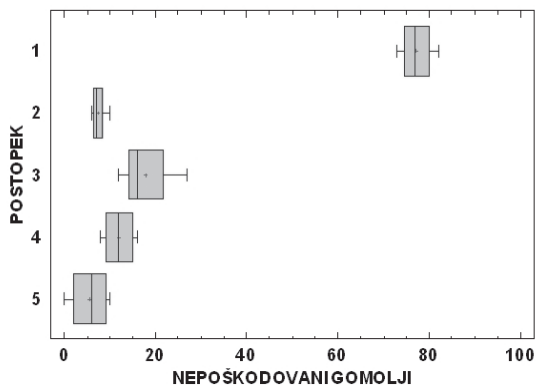


Slika 1: Učinkovitost varstva gomoljev pred poškodbami strun in učinkovitost zmanjšanja števila poškodb

Okvir z ročaji (slika 2) nam grafično prikazuje število nepoškodovanih gomoljev glede na posamezen postopek in homogenost ponovitev posameznega postopka. Ugotovili smo veliko homogenost ponovitev znotraj posameznega postopka.

V okviru poskusa je bila v Agrokemijskem laboratoriju Kmetijskega inštituta Slovenije opravljena analiza ostankov uporabljenih fitofarmaceutskih sredstev v vzorcih, pobranih v poskusu. Ostankov FFS ni bilo v nobenem vzorcu. Prav tako pri nobenem postopku nismo opazili fitotoksičnega delovanja fitofarmaceutskega sredstva.

Box-and-Whisker Plot



Slika 2: Okvir z ročaji nepoškodovanosti gomoljev po posameznih postopkih

4 SKLEPI

V letu 2011 smo preskušali učinkovitost štirih insekticidov za zatiranje strun v krompirju. Poskus smo izvedli na njivi, na kateri smo v letu 2010 ugotovili zelo visoko populacijo strun, sadike radiča, ki so rastle na poskusni njivi so bile 92 % poškodovane. Ugotovili smo, da je bil za zatiranje strun najbolj učinkovit fipronil z 75,93 % učinkovitostjo. Število poškodb je bilo manjše celo za 95,59 %. Učinkovitost ostalih a. s. je bila statistično značilno nižja. Učinkovitost a. s. *B. bassiana*, ki se uporablja v ekološki pridelavi, se od kontrole ni razlikovala statistično značilno. Visoko učinkovitost fipronila in mortaliteto strun so v postopku preskušanja učinkovitosti talnih insekticidov potrdili tudi Ester in sod. (2011). Fipronil v Sloveniji ni registriran za zatiranje strun, je pa registriran v nekaterih drugih državah EU, predvsem za tretiranje in varstvo semena pred talnimi škodljivci. V letu 2010 je v Nemčiji za zatiranje strun v krompirju imela izjemno 120 dnevno dovoljenje (Agrow, 2010). Na podlagi naših rezultatov ugotovljamo, da registrirana insekticida z a. s. teflutrin in še posebej *B. bassiana* na njivah, kjer je populacija strun zelo velika, ne učinkujeta dovolj za uspešno pridelavo krompirja tržne kakovosti, zelo učinkovita a. s. fipronil pa v Sloveniji nima ustrezne registracije. Priporočamo lahko le to, da pridelovalci krompirja ne sadijo na njive, kjer je populacija strun velika. Za pridobitev zanesljivejših podatkov o učinkovitosti insekticidov za zatiranje strun v naših rastnih in okoljskih razmerah bodo potrebna preizkušanja še v naslednjih rastnih sezonah, tako v krompirju kot ostalih poljščinah, kjer strune povzročajo znatno ekonomsko škoda.

5 LITERATURA

- Agrow. 2010. World crop protection news, 585: str. 14.
EPPO, 2005. Wireworms. PP 1/46 (3), OEPP/EPPO Bulletin 35, 1: 179 - 182.
Ester, A., van Rozen, K., Huiting, H. 2011 Insecticide soil treatment efficacy trials on *Agriotes* spp. Wireworms. International working group of *Ostrinia* and the other maize pests. Freiburg, 24 -26. 10. 2011 (predstavitev na kongresu).
Gomboc, S., Milevoj, L. 2001. Nove tehnologije spremljanja pojava pokalic in strun Coleoptera: (Elateridae) v kmetijskih posevkih. Zbornik predavanj in referatov 5. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Čatež ob Savi, 6.-8. marec 2001: 327 -336.

- Gomboc, S., Milevoj, L., Furlan, L., Toth, M., Bitenc, P., Bobnar, A., Celar, F. 2002. Two-years results of monitoring of click beetles and wireworms in Slovenia. IWGO-Newsletter XXIII, 1: 15 -16.
- Milevoj, L., Gomboc, S., Bobnar, A., Mikuš, T., Gril, T. 2005. Učinkovitost različnega števila feromonskih vab na nalet poljske pokalice (*Agriotes lineatus* L.). Acta agriculturae Slovenica. 85: 375-384.
- Statistični urad Republike Slovenije. 2012. Statistične informacije, Št. 4: str 32.

ALI SMO PRIPRAVLJENI NA NOVE VRSTE OGORČIC IZ RODU *Globodera*?

Barbara GERIČ STARE¹, Saša ŠIRCA², Gregor UREK³

^{1,2,3} Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

V tem delu razpravljamo o naši pripravljenosti na nove vrste ogorčic iz rodu *Globodera*, ki ogrožajo pridelavo krompirja v Sloveniji. Ogorčice vrst *Globodera pallida* in *G. rostochiensis*, znane pod skupnim imenom krompirjeve ogorčice (PCN), resno ogrožajo pridelavo krompirja po svetu. Prva najdba krompirjevih ogorčic v Sloveniji datira v l. 1971, ko so našli eno cisto *G. rostochiensis*. Od leta 1999 smo vrsto *G. rostochiensis* zasledili še večkrat, predvsem v osrednji in severni Sloveniji. Med uradnim nadzorom PCN smo jeseni 2011 prvič v vzorcih iz Slovenskih njiv našli vrsto *G. pallida*. Dve cisti smo izločili iz vzorca zemlje z njive za jedilni krompir v bližini Ivančne Gorice v osrednji Sloveniji. Ogorčico smo identificirali z morfometrijskimi analizami ter potrdili s tremi neodvisnimi molekularnimi metodami. Z metodama PCR-RFLP in sekvenciranje smo ogorčico identificirali kot evropski tip. Krompir in krompirjeve ogorčice izvirajo iz Južne Amerike. Razpon virulence pri PCN na tem območju je veliko večji kot pri evropskih populacijah. Vnos nove populacije PCN iz Južne Amerike v Evropo bi predvidoma vodil v zlom odpornosti proti evropskim genotipom PCN v evropskih sortah krompirja. Orodja za karakterizacijo populacij PCN so v razvoju in večinoma temeljijo na razlikah v mtDNA. V letu 2012 je bila opisana nova vrsta *G. ellingtonae*. Vrsta je sorodna in podobna PCN, našli pa so jo v Oregonu in Idahu (ZDA) na njivah, kjer so gojili krompir in druge poljščine. PCR-RFPL metodo, ki smo jo razvili na KIS, uporabljamo za identifikacijo PCN kot tudi vrst *G. tabacum* in *G. achilea*. S to metodo bi predvidoma ločili tudi vrsto *G. ellingtonae*, saj je bilo to možno z *in silico* verzijo te metode.

Ključne besede: *Globodera ellingtonae*, *Globodera pallida*, *Globodera rostochiensis*, identifikacija, virulence

ABSTRACT

ARE WE READY FOR THE NEW NEMATODE SPECIES OF THE *Globodera* GENUS?

In this work we discuss our readiness to identify the new *Globodera* nematodes potentially endangering potato production in Slovenia. *Globodera pallida* and *G. rostochiensis*, commonly known as potato cyst nematodes (PCN), are considered to be the most important nematode threat to potato production worldwide. The first report of the PCN in Slovenia dates back to 1971, when a single cyst of *G. rostochiensis* was detected. Since 1999 *G. rostochiensis* was detected several times, mainly in the central and northern parts of the country. During the official PCN systematic survey in autumn 2011, *G. pallida*, was found for the first time in a soil sample in Slovenia. Two viable cysts were extracted from the infested soil sample originated from a ware potato field near Ivančna Gorica, central Slovenia. The nematode was identified by morphometrical analyses and confirmed by three independent molecular methods. PCR-RFLP method and sequencing identified this population as the European type. South America is the origin of potatoes as well as PCN. The range of

¹ dr., univ. dipl. biol., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana, e-naslov: barbara.geric@kis.si

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

³ dr., univ. dipl. inž. agr., prav tam

virulence of PCN present in that area is far greater than that present in European populations. Introduction of a new PCN population from South America to Europe would very likely lead to a break of resistance to European PCN genotypes. Tools for characterization of populations of PCN are now starting to become available, mainly based on differences in mtDNA. A new species *G. ellingtonae* was described in 2012. This species, similar and closely related to PCN was found in Oregon and Idaho (USA) from agricultural fields, where potato and other crops have been grown. With the PCR-RFLP method developed and used at KIS for identification of PCN as well as *G. tabacum* and *G. achillea*, we should be able to differentiate *G. ellingtonae* as we have shown with the *in silico* version of this method.

Key words: *Globodera ellingtonae*, *Globodera pallida*, *Globodera rostochiensis*, identification, virulence

1 INTRODUCTION

Potato cyst nematodes (PCN) *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* are considered the most economically important plant parasitic nematodes of potato plants and can reduce yields by 70% (Brown and Sykes 1983; Greco *et al.*, 1982). Both species are present world-wide in over 50 potato-growing countries including Slovenia (Baldwin and Mundo-Ocampo, 1991) and are listed as quarantine organisms in Europe. The first report of the PCN in Slovenia dates back to 1971, when a single cyst of *G. rostochiensis* was detected (Hrzič, 1971). Since 1999, *G. rostochiensis* was detected several times, mainly in the central and northern parts of the country (Širca *et al.*, 2010). Interceptions of *G. pallida* in imported consignments of ware potato occurred several times, but had not been detected in soil in Slovenia until recently. During the official PCN systematic survey in Slovenia in the autumn 2011, the pale potato cyst nematode, *G. pallida*, was found for the first time in a soil sample (Širca *et al.*, 2012).

In addition to *G. rostochiensis* and *G. pallida*, the genus *Globodera* comprises more than 10 species, including *G. artemisiae*, *G. achilleae*, *G. hypolyssi*, *G. leptonepia*, *G. 'mexicana'*, *G. millefolii*, *G. mirabilis*, *G. pseudorostochiensis*, *G. tabacum* species complex and *G. zelandica*, but none of these species is damaging the potato production. However, a new species *G. ellingtonae* was described in 2012 (Handoo *et al.*, 2012). The species is similar and closely related to PCN. It was found in Oregon and Idaho (USA) from agricultural fields, where potato and other crops have been grown. Morphologically, *G. ellingtonae* is a round-cyst species that differs from the related species *G. pallida*, *G. rostochiensis*, *G. tabacum* complex and *G. mexicana* by its distinctive J2 tail, and by one or another of the following: shorter mean stylet length in J2, females and males; number of refractive bodies in the hyaline tail terminus of J2; cyst morphology including Granek's ratio; number of cuticular ridges between the anus and vulva; and in the shape and length of spicules in males. Since morphological character can overlap between species molecular identification of the PCN and closely related species is usually necessary.

In this work we present the tools and methods at the Nematology laboratory of the Agricultural Institute of Slovenia to identify the new *Globodera* nematodes potentially endangering potato production in Slovenia.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 *G. pallida* identification and characterisation

Two viable cysts were extracted from the infested soil sample originated from a ware potato field near Ivančna Gorica, central Slovenia. The posterior part of the cysts containing eggs and juveniles were used for morphometrical analysis, while the anterior parts were used for DNA extraction and molecular analyses. The ribosomal internal transcribed spacer (ITS)

region was amplified using ITS5 and PITSp4 primers and detected in real-time PCR as described by Bačić *et al.* (2008). The ribosomal DNA region extending from the 3' end of the 18S ribosomal subunit, including all of ITS1, 5.8S, and ITS2, to the 5' end of the 28S ribosomal subunit was amplified using primers described by Ferris *et al.* (1993). The amplicon was analysed by PCR-RFLP method (Širca *et al.*, 2010) and sequenced. The similarity of the obtained sequence to other sequences in the public domain was performed by BLASTn. To further characterize this population, we have determined sequences of the cytochrome b (*cytB*) gene as described by Picard *et al.* (2007) and the S222 non-coding region on the mitochondrial DNA (mt DNA) as described by Grujić (2010). To determine the spread of *G. pallida* infestation in Slovenia an additional 69 samples were taken from the surroundings of the field where *G. pallida* was first detected.

2.2 *G. ellingtonae* identification

The first molecular method of choice for PCN identification in our laboratory is ITS region amplification with real-time PCR (Bačić *et al.*, 2008). According to data published by Handoo *et al.* (2012) the PCN species specific primers from this method do not anneal and allow amplification in *G. ellingtonae*. We can therefore conclude that the method would not allow *G. ellingtonae* rDNA amplification and species identification. In our laboratory the second molecular method of choice for *Globodera* species identification (also in cases where morphological analysis indicates PCN, but these were not confirmed by real-time PCR) is the PCR-RFLP method (Širca *et al.*, 2010). We have performed an *in silico* version of this PCR-RFLP method using computer software BioEdit in order to check if this method would identify *G. ellingtonae* correctly.

146

2.3 mtDNA sequences for characterization of PCN populations

Sequence of *cytB* gene was determined in 10 populations of *G. rostochiensis* from Slovenia, Croatia, Bosnia and Herzegovina, and Serbia using the primers developed by V. Blok *et al.* (unpublished).

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 First finding of *Globodera pallida* in Slovenia

Two viable cysts extracted from the infested soil sample originated from a ware potato field near Ivančna Gorica, central Slovenia. The species identification by morphometrical analyses and confirmed by three independent molecular methods proved the presence of *G. pallida*. The determined sequence of rDNA containing ITS1, 5.8S rRNA gene and ITS2 (acc. no. HF583248) revealed unequivocal similarity to *G. pallida*. Restriction of the rDNA sequence extending from the 3' end of the 18S ribosomal subunit, including all of ITS1, 5.8S, and ITS2, to the 5' end of the 28S ribosomal subunit with the PCR-RFLP revealed that the Slovenian population of *G. pallida* is of the European type. To further characterize this population, we have determined sequences of the *cytB* gene (acc. nos. HF583256 - HF583265) and the S222 non-coding region on the mtDNA (acc. nos. HF583249 - HF583255). Both sets of determined sequences (*cytB* gene and S222 non-coding region) exhibited 98.7 or higher identity. Viable *G. pallida* cysts were found in the five of additional 69 samples taken from two neighboring fields (one of grassland and the other of clover).

Three fields, totaling 1.9 ha, were declared as *G. pallida*-infested. The eradication of the pest will take place by enforcing strict phytosanitary measures. Ware potatoes originating from areas where the pests occur is considered to be the most probable pathway for the introduction of *G. pallida* in Slovenia. A ware potato processing facility is situated in very close proximity

to the infested fields. The waste waters from potato tuber washing were discharging onto the grassland, never used for potato or other field crop production in which the *G. pallida* infestation was found. The facility processes imported ware potato from several European and non-European countries. This case demonstrates that ware potato may pose a serious risk for the introduction of such pests, and should be therefore subjected to more intensive phytosanitary inspection.

3.2 New *Globodera* species from USA - *G. ellingtonae*

Sixty-four *G. ellingtonae* rDNA sequences were downloaded from the public DNA database and used in the *in silico* RFLP analysis. The results showed four different restriction patterns in *G. ellingtonae*, which differed from the patterns of *G. pallida*, *G. rostochiensis*, *G. tabacum* and *G. achillea* (Table 1).

Table 1: *In silico* cleavage and fragment sizes of *Globodera rostochiensis*, *G. pallida*, *G. tabacum*, *G. achillea* and *G. ellingtonae* rDNA-ITS sequences with *AluI*, *HinfI*, *MboI*, *MseI* and *RsaI* restriction enzymes.

Species with sequence acc. no. and source	Fragment size	<i>AluI</i>	<i>HinfI</i>	<i>MboI</i>	<i>MseI</i>	<i>RsaI</i>
<i>G. rostochiensis</i>						
AY700060 Slovenia: Libeliče	874	381, 310,	856, 18	522, 170,	449,	538, 221,
EF153839 USA: New York	874	148, 35		165, 16	425	106, 9
FJ212163 Canada: Newfoundland	874					
DQ847119 Russia: Moscow region	874					
FJ212166 Canada: Quebec	874					
DQ847118 UK: Scarcliffe	873					
<i>G. pallida</i>						
EF153838 UK: York	876					
EF153836 USA: Idaho	876	459, 382,	706, 152,	431, 171,	426,	539, 328, 9
FJ212165 Canada: Newfoundland	877	35	19	165, 93,	392, 58	
EU855119 Poland	876			16		
<i>G. pallida</i>						
DQ097514 Argentina	874	459, 382,	706, 152,	524, 170,	450,426	539, 222,
EU006706 Peru	876	35	19	165, 16		106, 9
<i>G. tabacum</i>						
FJ667946	877	458, 383,	860, 17	524, 172,	452,	541, 222,
		36		165, 16	425	105, 9
<i>G. achillea</i>						
AY599498 Slovenia: Zadraga	888	888	888	530, 177,	460,	549, 218,
				165, 16	428	112, 5, 4
<i>G. ellingtonae</i> GQ896542,						
GQ896546, GQ896547	873	457, 380,	559, 152,	521, 171,	449,	538, 124,
		36	145, 17	165, 16	424	105, 97, 9
<i>G. ellingtonae</i> GQ896543	873	811, 62	559, 152,	495, 197,	449,	538, 124,
			145, 17	165, 16	424	105, 97, 9
<i>G. ellingtonae</i> GQ896544	873	457, 380,	704, 152,	521, 171,	425,	537, 222,
		36	17	165, 16	400, 48	105, 9
<i>G. ellingtonae</i> GQ896545 *	873	457, 380,	856, 17	521, 171,	449,	547, 221,
		36		165, 16	424	105

It should be noted, that one pattern (marked by asterisk in Table 1) was very similar to restriction pattern in *G. tabacum*. The subtle difference of maximum 6 bp in one fragment would not be recognized using standard agarose gel electrophoresis for visualization of restriction patterns, but might be possible with the more precise method of DNA size analysis using capillary electrophoresis or sequencer, the latter in combination with Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (TRFLP). A third alternative method that could

be used would be sequencing of the rDNA amplicon. The sequence obtained could be used for *in silico* restriction and BLAST comparison to all other known sequences.

With the PCR-RFLP method developed and used at KIS for identification of PCN as well as *G. tabacum* and *G. achillea*, we would most probably be able to differentiate *G. ellingtonae* as we have shown with the *in silico* version of the this method. However such a test should be performed on biological material as soon as it becomes available as well.

3.3 Risk of non-European PCN populations

The Panel on Plant Health of the European Food and Safety Authority (EFSA) has recently delivered a meaningful scientific opinion where the risks to plant health posed by European versus non-European populations of the PCN *G. pallida* and *G. rostochiensis* to solanaceous plants in the EU are discussed (EFSA Panel on Plant Health, 2012). Main facts and predictions described there are recapitulated as follows: it was generally accepted that PCN originated from the Andean Highlands of South America, where they co-evolved with their plant hosts (potatoes and other members of the family Solanaceae). Their initial introduction into Europe consisted of a small number of cysts that represent a restricted proportion of the gene pool and virulence present in South America. The PCN introduced into Europe are thought to have originated from a highly restricted region in the south of Peru. All PCN currently present in Europe represent a minor subset of the full biological diversity present in South America. The range of virulence of PCN present in South America is far greater than that present in European populations. There is only a limited range of control options currently available for PCN. The use of resistant cultivars resulted in a decline in PCN populations and is recognized as the most important and effective control option in Europe. It was assessed that further introductions of PCN from South America are almost certain to have different virulence characteristics from the PCN currently present in Europe. This will lead, in time, to the currently available resistance to PCN (which has been bred against populations currently present in Europe) being overcome. The impact on the potato is therefore expected to be major. It has been demonstrated unequivocally that South American populations of both species of PCN are virulent to the resistance sources used in European cultivars and that selection for virulence can occur. The PCN populations originating from South America are considered a potential threat to potato cultivation control in Europe if introduced here. As new South American genotypes are very likely to have a similar potential for establishment and spread as existing European genotypes, the potato varieties currently grown in Europe will not be resistant to new virulent genotypes. As resistant varieties take a very long time to develop, the consequences of a new introduction of South American PCN would be major. The Panel therefore concluded that it is very important to maintain the current phytosanitary measures to prevent the entry of South American PCN.

Several studies have investigated differences between European and South American populations of PCN including our studies of variability of cell wall degrading proteins (Gerič Stare *et al.*, 2011, 2012). No diagnostic test that distinguishes these populations or that identifies populations with specific virulence characteristics has been developed. However, various parts of the mtDNA have been used in phylogenetic studies of *G. pallida* and *G. rostochiensis* both from their centre of origin and from regions into which they have been introduced (Armstrong *et al.*, 2007, Plantard *et al.*, 2008). Although these tests have the capacity to differentiate European and South American populations (with the exception of the South American populations from which the European introduction was derived), they do not differentiate on the basis of virulence characteristics.

As the new tools for characterization of PCN populations will most likely be based on differences in mtDNA sequences, our group has studied parts of mtDNA in PCN from Balkan region. We have determined variability within two regions of mtDNA in Slovene populations of *G. pallida* (*cytB* gene: acc. nos. HF583256 - HF583265, S222 non-coding region: HF583249 - HF583255). Further we have shown that *cytB* gene in *G. rostochiensis* in ten populations from Slovenia, Croatia, Bosnia and Herzegovina, and Serbia is identical (acc. nos. HF913246 - HF913255).

4 CONCLUSIONS

In 2011 *G. pallida* was detected in Slovenian soils for the first time. The KIS Nematology laboratory identified this new PCN species in Slovenia quickly and correctly; the diagnostic report was sent out six days after receiving the soil sample.

Additionally, our laboratory participates in yearly proficiency tests for extraction and identification by morphometrical and molecular methods for PCN. In comparison to other European nematology laboratories participating in the test, our laboratory has always ranked in the top quarter among more than 20 laboratories.

In 2012 a new *Globodera* species, *G. ellingtonae* originating from USA was described. With the methods currently used at KIS for *Globodera* species identification we would presumably be able to differentiate the new species from the PCN.

Introduction of a new PCN population from South American to Europe would very likely lead to break of resistance in potato to European PCN genotypes. We recognize the need to develop new molecular methods for characterization of PCN populations and identification of *Globodera* species.

5 REFERENCES

- Armstrong, M.R., Husmeier, D., Phillips, M.S., Blok, V.C., 2007. Segregation and recombination of a multipartite mitochondrial DNA in populations of the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Journal of Molecular Evolution*, 64: 689–701.
- 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,: 63-65.
- Brown, E.B., Sykes, G.B. 1983. Assessment of the losses caused to potatoes by the potato cyst nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Annals of Applied Biology*, 103: 271-276.
- Gerič Stare, B., Fouville, D., Širca, S., Gallot, A., Urek, G., Grenier, E. 2011. Molecular variability and evolution of the pectate lyase (*pel-2*) parasitism gene in cyst nematodes parasitizing different Solanaceous plants. *Journal of molecular evolution*, 72, 169-181.
- Gerič Stare, B., Lamovšek, J., Širca, S., Urek, G. 2012. Assessment of sequence variability in putative parasitism factor, expansin (*expB2*) from diverse populations of potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 79, 49-54.
- Greco N, Di Vito M, Brandonisio A, Giordano I, De Marinis G (1982) The effect of *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* on potato yields. *Nematologica* 28:379-386
- Grujić, N. 2010. Intra-specific diversity in noncoding regions of the mitochondrial DNA of *Globodera pallida*. European Master of Science in Nematology, Faculty of Science, Gent University, Gent, Belgium, 34 pp.
- EFSA Panel on Plant Health (PLH); Scientific Opinion on the risks to plant health posed by European versus non-European populations of the potato cyst nematodes *Globodera pallida* and *Globodera rostochiensis*. 2012. *EFSA Journal* 2012, 10(4):2644: 71 pp., doi:10.2903/j.efsa.2012.2644. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal
- Ferris, V.R., J.M. Ferris, Faghihi, J. 1993. Variation in spacer ribosomal DNA in some cyst-forming species of plant parasitic nematodes. *Fundamental and Applied Nematology*, 2: 177-184.
- Handoo, Z.A., Carta, L.K., Skantar, A.M., Chitwood, D.J. 2012. Description of *Globodera ellingtonae* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae) from Oregon. *Journal of Nematology*, 44,1: 40-57.

- Hržič., A. 1971. [Investigations of nematodes as direct plant pests and vectors of plant diseases]. Agricultural Institute of Slovenia, Ljubljana, Technical report, 15 pp.
- Picard, D., Sempere, T., Plantard, O. 2007. A northward colonization of the Andes by the potato cyst nematode during geological times suggests multiple host-shifts from wild to cultivated potatoes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42: 308-316.
- Plantard, O., Picard, D., Valette, S., Scurrah, M., Grenier, E., Mugniery, D., 2008. Origin and genetic diversity of Western European populations of the potato cyst nematode (*Globodera pallida*) inferred from mitochondrial sequences and microsatellite loci. *Molecular Ecology*, 17: 2208-2218.
- Širca, S., Gerič Stare, B., Strajnar, P., Urek, G. 2012. First report of pale potato cyst nematode *Globodera pallida* from Slovenia. *Plant disease*, 96, 5: 773.
- Širca, S., Gerič Stare, B., Strajnar, P., Urek, G. 2010. PCR-RFLP diagnostic method for identifying *Globodera* species in Slovenia. *Phytopathologia Mediterranea*, 49: 361-369.

PREUČEVANJE UČINKOVITOSTI RAZLIČNIH BIOTIČNIH AGENSOV ZA ZATIRANJE OGRCEV (*Scarabaeidae*) NA TRAVINJU – IZKUŠNJE S KOČEVSKEGA

Žiga LAZNIK¹, Matej VIDRIH², Stanislav TRDAN³

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

IZVLEČEK

V letu 2012 smo izvedli 5-bločni poljski poskus zatiranja ogrcev na travinju v Gotenici. V poskusu smo preučevali insekticidno delovanje različnih pripravkov, katerih aktivno snov predstavljajo biotični agensi *Beauveria brongniartii*, *B. bassiana*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* in *Heterorhabditis bacteriophora*. Biotične agense smo v tla vnesli dvakrat, in sicer 17. aprila ter 31. avgusta. Z entomopatogenimi ogorčicami (*H. bacteriophora*) smo zemljišče poškropili dva tedna po vnosu ostalih biotičnih agensov. S standardno detekcijsko metodo za talne škodljivce - talnimi izkopi - smo 16. aprila, 24. maja, 20. junija, 10. julija, 9. avgusta, 10. septembra, 22. oktobra in 20. novembra spremljali populacijsko dinamiko ogrcev v tleh. Morfološka analiza ogrcev je pokazala, da pripadajo junijskemu hrošču (*Amphimallon solstitiale*), julijskemu hrošču (*Anomala dubia*), vrtnemu hrošču (*Phyllopertha horticola*) in v manjšem obsegu tudi poljskemu majskeemu hrošču (*Melolontha melolontha*) ter gozdnemu majskeemu hrošču (*Melolontha hippocastani*). Ugotovili smo, da se je povprečno število ogrcev razvojnih stopenj L1 in L2 po vnosu vseh biotičnih agensov v tleh zmanjšalo pod gospodarski prag škodljivosti (od 30 do 40 ogrcev/m² za L1 oz. od 20 do 30 ogrcev/m² za L2), medtem ko smo zmanjšanje ogrcev razvojne stopnje L3 pod gospodarski prag škodljivosti (10 ogrcev/m²) dosegli le ob uporabi pripravkov, katerih aktivno snov so predstavljale entomopatogene glive v kombinaciji z entomopatogenimi ogorčicami.

Ključne besede: biotično varstvo rastlin, ogrci, *Scarabaeidae*, naravno travinje, Kočevska

ABSTRACT

TESTING THE EFFICACY OF DIFFERENT BIOLOGICAL CONTROL AGENTS AGAINST WHITE GRUBS (*Scarabaeidae*) ON GRASSLAND – EXPERINCES FROM KOČEVJE REGION

In 2012, we conducted a 5-block field experiment in Gotenica (Slovenia), in which we tested different control methods of white grubs on grassland. In an experiment we studied the insecticidal activity of different products which active ingredients are biological agents *Beauveria brongniartii*, *B. bassiana*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* and *Heterorhabditis bacteriophora*. During the time period we applied biological agents twice, namely on 17th April and 31st August. Entomopathogenic nematodes (*H. bacteriophora*) were applied two weeks after the application of other biological control agents. With a standard detection methods of soil pests - soil excavation - on 16th April, 24th May, 20th June, 10th July, 9th August, 10th September, 22nd October, and 20th November we monitored the population dynamics of white grubs in the soil. The morphological analysis of

¹ doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² doc. dr., prav tam

³ prof. dr., prav tam

white grubs showed the major presence of June beetle (*Amphimallon solstitialis*), margined vine chafer (*Anomala dubia*), garden chafer (*Phyllopertha horticola*) and in smaller extent also of common cockchafer (*Melolontha melolontha*) and forest cockchafer (*Melolontha hippocastani*). Results showed that the average number of white grubs (L1 and L2) after the application of biological agents into the soil, decreased under the economical threshold of noxiousness (from 30 to 40 white grubs L1/m², from 20 to 30 white grubs L2/m², respectively), meanwhile the reduction of developmental stage L3 of white grubs only was attained when products with active ingredients of entomopathogenic fungus in a combination with entomopathogenic nematodes were used.

Key words: biological control, grubs, Scarabaeidae, grassland, Kočevje region

1 UVOD

Ogrci (ličinke) nekaterih vrst hroščev iz družine pahljačnikov (Scarabaeidae) - poljski majski hrošč (*Melolontha melolontha*), gozdni majski hrošč (*M. hippocastani*), junijski hrošč (*Amphimallon solstitialis*), julijski hrošč (*Anomala dubia*) in vrtni hrošč (*Phyllopertha horticola*) - lahko ob prereznožitvi predstavljajo gospodarsko pomembne škodljivce na travinju (Laznik *et al.*, 2012). Ličinke omenjenih hroščev se prehranjujejo s koreninami rastlinskih vrst v travni ruši. Neposredna škoda se kaže kot zmanjšanje sposobnosti trav za sprejem vode in hranil ter zmanjšana stabilnost travnega pokrova. Slednje vodi na pašnikih k ogojitvam zemljišč in zdrsnih poškodb pašnih živali. Travna ruša ob zmanjšanju obsega koreninskega spleta rumeni in propada, njena pohodnost je zmanjšana, videz pa okrnjen. Ob močnejših prereznožitvah ogrcev so prizadete večje sklenjene površine, ki jih je namalokrat potrebno obnoviti. Posredno (sekundarno) škodo predstavljajo raztrganine in naluknjanje travnega pokrova, povzročene s strani sesalcev (npr. divjega prašiča - *Sus scrofa*) ali ptičev, ki ogrce v travni ruši iščejo za lastno prehrano (Genov, 1981).

152

Zatiranje odraslih osebkov je skoraj nesmiselno in največkrat ni potrebno, zato je potrebno nameniti večjo pozornost ogrcem. V Sloveniji je trenutno registriran le en pripravek (aktivna snov teflutrin) za zatiranje talnih škodljivcev, vendar ne za uporabo na travinju. Številni strokovnjaki zato eno od možnih rešitev za zmanjšanje škodljivosti ogrcev na travinju vidijo v biotičnem varstvu. S problematiko ogrcev so se v Sloveniji srečali na območju Črnega vrha nad Idrijo med leti 2002 in 2006. Zaradi izredne občutljivosti kraške pokrajine so se v letu 2005 odločili za biotično zatiranje škodljivca s entomopatogeno glivo *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. Pred vnosom biotičnih agensov v tla so s standardno metodo talnih izkopov prešteli število ogrcev/m² površine. Ugotovljeno število je v nekaterih primerih presegalo 300, kritično število za omenjenega škodljivca pa za travno rušo znaša od 30 do 40 ogrcev L1/m², od 20 do 30 ogrcev L2/m² oz. od 10 do 20 ogrcev L3/m²) (Huiting *et al.*, 2006). Biotično zatiranje z glivo *B. brongniartii* je bilo izvedeno v juniju 2005 na 92 ha travnikov. Zmanjšanje števila ogrcev, ki ga lahko pripišemo delovanju glive *B. brongniartii*, je bilo 38,7 %. Skupno zmanjšanje števila ogrcev na travnikih, tretiranih z glivo *B. brongniartii*, se je zmanjšalo za 88,2 % (Poženel, 2005).

Entomopatogene ogorčice (EO) so talni organizmi, ki živijo z bakterijami v simbiotsko-mutualističnem odnosu. Uporaba EO kot načina biotičnega varstva rastlin pred škodljivimi žuželkami je dobro znana (Kaya in Gaugler, 1993). Tako domače (Laznik *et al.*, 2009a) kot nekatere tuje raziskave (Koppenhöffer in Kaya, 1997; Koppenhöfer *et al.*, 2004) so pokazale, da so lahko EO učinkoviti biotični agensi za zatiranje ogrcev v tleh. Raziskave predvsem izpostavljajo vrsto *Heterorhabditis bacteriophora*, ki je domorodna tudi v Sloveniji (Laznik *et al.*, 2009b), saj so v nekaterih primerih dosegli tudi do 96 % uspešnost zatiranja ogrcev v tleh. V sorodni raziskavi Koppenhöffer in Kaya (1997) omenjata tudi možnost sočasne tretiranja z bakterijo *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, ki je v pripravku Delfin registrirana tudi v

Sloveniji. Izmed že preučevanih biotičnih aktivnih snovi pa smo želeli v našem poskusu preiskusiti tudi entomopatogeno glivo *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., ki je pri nas trenutno registrirana v pripravku Naturalis, entomopatogeno glivo *B. brongniartii*, ki se je v letih 2005-2006 izkazala kot zadovoljivo učinkovita ter bakterijo *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* (pripravek Novodor), ki smo jo za namen našega poskusa uvozili iz Madžarske. Nekatere predhodne raziskave so pokazale, da so omenjeni agensi učinkovita alternativna rešitev pri zatiranju ogrcev v tleh (Dhoj *et al.*, 2008; Koppenhöfer *et al.*, 2004).

2 MATERIAL IN METODE DELA

V Gotenici (zemljepisna širina: 45°36'42,53"N; zemljepisna dolžina: 14°44'49,72"E, nadmorska višina: 659 m) smo v letu 2012 (16. april) zastavili 5-bločni poskus z 10 obravnavanji (parcelami) v vsakem od blokov. Velikost vsake parcele v bloku je bila 5 x 5 m. Obravnavanja v poskusu so navedena v preglednici 1.

Preglednica 1: Obravnavanja, ki smo jih leta 2012 vključili v poljski poskus zatiranja ogrcev na travinju v Gotenici.

Obravnavanje	Aktivna snov	Koncentracija
Delfin	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	60 kg/ha (0,025 %); okuženo zrnje ječmena
Naturalis	<i>B. bassiana</i>	60 kg/ha (0,2 %); okuženo zrnje ječmena
Novodor	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>tenebrionis</i>	60 kg/ha (0,16 %); okuženo zrnje ječmena
Melocont	<i>B. brongniartii</i>	60 kg/ha; okuženo zrnje ječmena
Delfin + Nemasys	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> + <i>H. bacteriophora</i>	60 kg/ha (0,025 %); okuženo zrnje ječmena + 5 x 10 ⁹ IL/ha
Naturalis + Nemasys	<i>B. bassiana</i> + <i>H. bacteriophora</i>	60 kg/ha (0,2 %); okuženo zrnje ječmena + 5 x 10 ⁹ IL/ha
Novodor + Nemasys	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>tenebrionis</i> + <i>H. bacteriophora</i>	60 kg/ha (0,16 %); okuženo zrnje ječmena + 5 x 10 ⁹ IL/ha
Melocont + Nemasys	<i>B. brongniartii</i> + <i>H. bacteriophora</i>	60 kg/ha; okuženo zrnje ječmena + 5 x 10 ⁹ IL/ha
Nemasys	<i>H. bacteriophora</i>	5 x 10 ⁹ IL/ha
Kontrola	voda	

S standardno detekcijsko metodo za talne škodljivce, talnimi izkopi, smo 16. aprila, 24. maja, 20. junija, 10. julija, 9. avgusta, 10. septembra, 22. oktobra in 21. novembra spremljali populacijsko dinamiko ogrcev v tleh. Morfološka analiza ogrcev je pokazala, da pripadajo predvsem junijskemu hrošču (*Amphimallon solstitiale*), julijskemu hrošču (*Anomala dubia*), vrtnemu hrošču (*Phyllopertha horticola*) in v manjšem obsegu tudi poljskemu majskemu hrošču (*Melolontha melolontha*) ter gozdnemu majskemu hrošču (*Melolontha hippocastani*). V poskusu smo preučevali insekticidno delovanje različnih pripravkov, katerih aktivne snovi predstavljajo biotični agensi *Beauveria brongniartii*, *B. bassiana*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* in *Heterorhabditis bacteriophora*. Biotične agense smo v letu 2012 v tla vnesli dvakrat, in sicer 17. aprila ter 31. avgusta. S prvo aplikacijo biotičnih agensov smo želeli zatirati prezimele stadije ogrcev v tleh, medtem ko smo z drugo aplikacijo vplivali na preživetje »letošnjih« ogrcev v tleh. V obeh primerih je bilo tretiranje upravičeno, saj je bil gospodarski prag škodljivosti ogrcev v tleh presežen. Entomopatogene ogorčice (*H. bacteriophora*) smo na zemljišče nanegli (škropilnica) dva tedna po vnosu ostalih biotičnih agensov. Slednje smo nanesele na sterilizirano ječmenovo zrnje v tla vnesli z parcelno sejnalnico Hunters, ki je sicer namenjena za direktno setev (Hunter Rotary Strip Seeder, Velika Britanija) v rušo pašnikov. Ta sejnalnica s predhodnim frezanjem ustvari boljše

razmere za uspevanje biotičnih agensov, nanesenih na ječmenovo zrnje. Biotične agense, ki so bili pripravljene za aplikacijo z raztopino (suspenzija entomopatogenih ogorčic) smo nanесли na travno rušo z batno škroplilnico SOLO SO 463 z manometrom in maksimalnim tlakom 3 bare.

Vrednosti povprečnega števila ogrcev/m² različnih razvojnih stopenj v odvisnosti od termina vzorčenja in obravnavanja smo analizirali z ANOVO s programom Statgraphics Plus for Windows 4.0 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc.). Statistično značilne razlike smo določili s Student-Newman-Keulsovim preizkusom mnogoterih primerjav ($\alpha = 0,05$).

3 REZULTATI

Na skupno število ogrcev v tleh (L1, L2 in L3) so signifikantno značilno vplivali termin vzorčenja ($P < 0.0001$), izbrani način zatiranja ($P = 0.0017$) ter interakcija med njima ($P = 0.0188$). Skupno število ogrcev v tleh je bilo najvišje v aprilu (57 ± 8 ogrcev/m²) in se je po nanosu biotičnih agensov zmanjševalo (julij: 19 ± 3 ogrcev/m²) do avgusta, ko se je njihovo število v tleh ponovno povečalo (51 ± 6 ogrcev/m²) (preglednica 2). Drugi nanos biotičnih agensov je nato vplival na postopno zmanjševanje ogrcev v tleh do novembra, ko smo zabeležili 32 ± 3 ogrcev/m² (slika 1). Od preučevanih biotičnih agensov smo signifikantno nižje povprečno število ogrcev/m² v primerjavi s kontrolo (53 ± 13 ogrcev/m²) dosegli ob uporabi pripravkov Delfin (34 ± 4 ogrcev/m²), Delfin + *H. bacteriophora* (30 ± 7 ogrcev/m²), Melocont + *H. bacteriophora* (27 ± 7 ogrcev/m²) in Novodor (29 ± 4 ogrcev/m²) (slika 2).

Preglednica 2: Povprečno število ogrcev/m² v letu 2012.

154

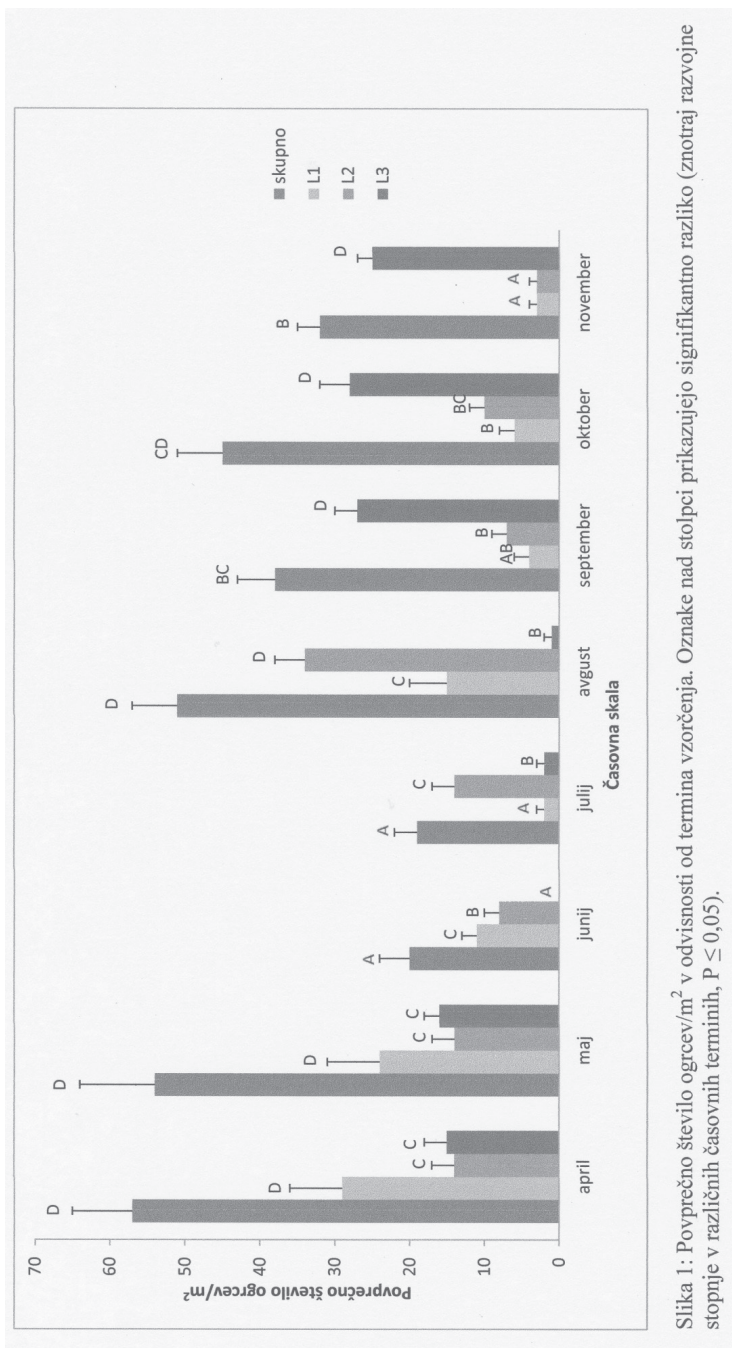
Termin štetja	Razvojna stopnja		
	L1	L2	L3
16. april	28,9	13,4	14,5
24. maj	22,4	11,2	15,9
20. junij	11,4	8,2	0
10. julij	2	12,8	2,4
9. avgust	15	34,3	1,2
10. september	4	6,6	27,4
22. oktober	6,4	9,8	28,4
21. november	3,2	3,1	25,3

Na povprečno število ogrcev prve stopnje (L1) je signifikantno značilno vplival le termin vzorčenja ($P < 0.0001$). Največ ogrcev smo v tleh našli v aprilu (29 ± 7 ogrcev/m²). Njihovo število se je po nanosu biotičnih agensov zmanjševalo (julij: 2 ± 1 ogrcev/m²) do avgusta, ko se je njihovo število v tleh ponovno povečalo (15 ± 5 ogrcev/m²). Drugi nanos biotičnih agensov je nato vplival na postopno zmanjševanje ogrcev v tleh do novembra, ko smo zabeležili 3 ± 1 ogrcev/m² (Slika 1). Od preučevanih biotičnih agensov smo signifikantno nižje povprečno število ogrcev/m² v primerjavi s kontrolo (22 ± 10 ogrcev/m²) dosegli le ob uporabi pripravka Novodor (5 ± 1 ogrcev/m²) (slika 2).

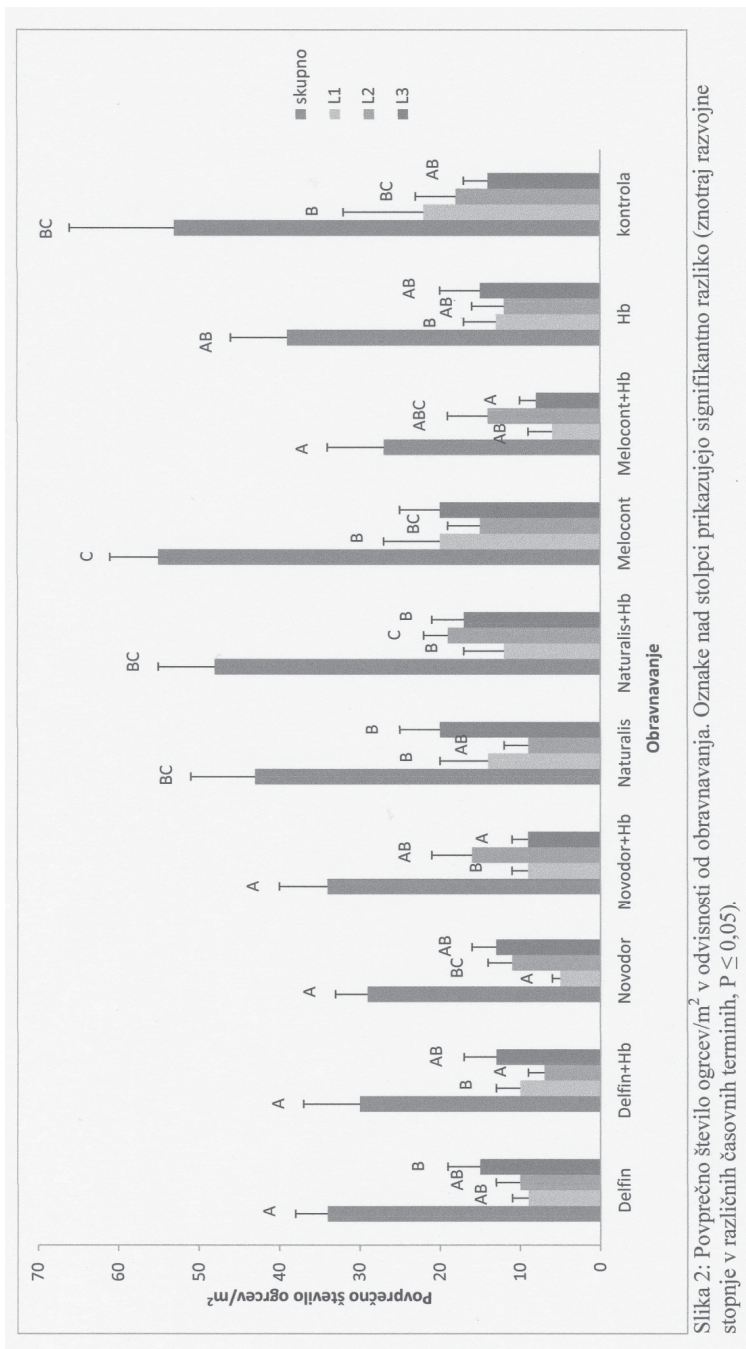
Na povprečno število ogrcev druge stopnje (L2) so signifikantno značilno vplivali termin vzorčenja ($P < 0.0001$), izbrani način zatiranja ($P = 0.0382$) ter interakcija med njima ($P = 0.0091$). V aprilu smo v tleh našli 14 ± 3 ogrcev/m². Po nanosu biotičnih agensov se je njihovo število zmanjševalo (junij: 8 ± 2 ogrcev/m²) do julija, ko se je njihovo število v tleh ponovno povečalo (14 ± 3 ogrcev/m²). Drugi nanos biotičnih agensov v avgustu je nato vplival na postopno zmanjševanje ogrcev v tleh do novembra, ko smo zabeležili 3 ± 1 ogrcev/m² (slika 1). Od preučevanih biotičnih agensov smo signifikantno nižje povprečno

število ogrcev/m² v primerjavi s kontrolo (18 ± 5 ogrcev/m²) dosegli le ob uporabi pripravka Delfin + *H. bacteriophora* (7 ± 2 ogrcev/m²) (slika 2).

155



Slika 1: Povprečno število ogrcev/m² v odvisnosti od termina vzorčenja. Oznake nad stolpci prikazujejo signifikantno razliko (znotraj razvojne stopnje v različnih časovnih terminih, $P \leq 0,05$).

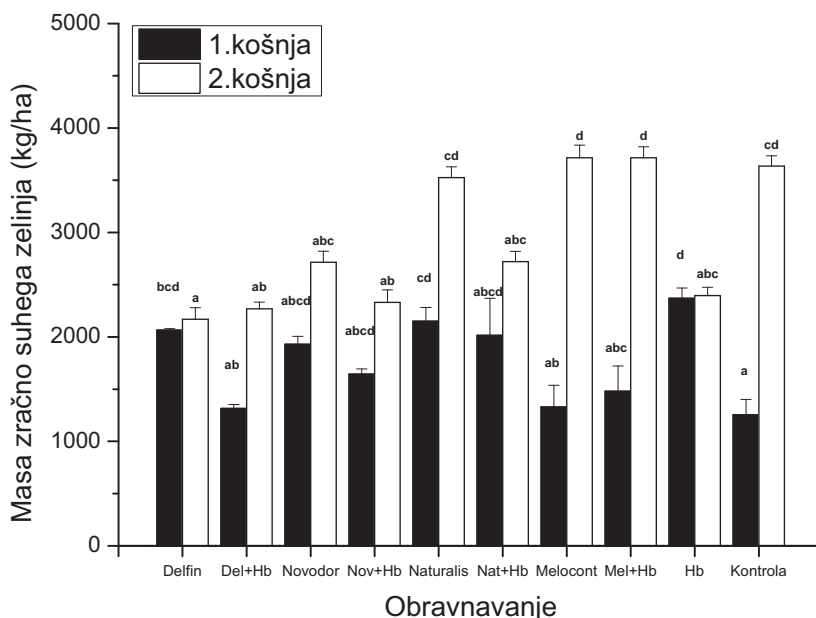


Slika 2: Povprečno število ogrcev/m² v odvisnosti od obravnavanja. Oznake nad stolpci prikazujejo signifikantno razliko (znotraj razvojne stopnje v različnih časovnih terminih, $P \leq 0,05$).

Na povprečno število ogrcev tretje stopnje (L3) so signifikantno značilno vplivali termin vzorčenja ($P < 0.0001$), izbrani način zatiranja ($P = 0.0012$) ter interakcija med njima ($P = 0.0008$). V aprilu smo v tleh našli 15 ± 3 ogrcev/m². Po nanosu biotičnih agensov je njihovo število v tleh v maju ostalo nespremenjeno, zmanjšalo pa se je v juniju, juliju in avgustu predvsem na račun zabubljenja ogrcev. Poletna aplikacija biotičnih agensov ni vplivala na zmanjšanje števila tretje stopnje ličink v tleh, nasprotno, njihovo število se je celo povečalo (november: 25 ± 2 ogrcev/m²) (slika 1). Od preučevanih biotičnih agensov ali njihovih kombinacij nobeden v primerjavi s kontrolo ni signifikantno vplival na zmanjšanje ogrcev v tleh.

V poskusu v Gotenici sta bili opravljeni tudi dve košnji po standarnem postopku ugotavljanja pridelka suhega zelinja. Prva košnja je bila opravljena 24. maja 2012, druga košnja pa 9. avgusta. Med obema košnjama je bilo 78 rastnih dni razmika. Pri prvi košnji je bil največji pridelek suhega zelinja (2.370 kg/ha) ugotovljen v obravnavanju Hb in najmanjši (1255 kg/ha) v kontrolnem (netretiranem) postopku. Povprečni pridelek zelinja v vseh obravnavanjih je znašal 1755 kg/ha. Druga košnja v poskusu je dala v povprečju za 1200 kg/ha več suhega zelinja kot prva. V obravnavanjih Melocont in Mel+Hb smo ugotovili enak in največji pridelek (3715 kg/ha), medtem ko smo na parcelah, kjer je bil uporabljen pripravek Delfin, dosegli pridelek suhega zelinja le 2.170 kg/ha. Skupni pridelek se je gibal med 3.585 kg/ha (Del+Hb) in 5.675 kg/ha (Naturalis) (slika 3). Stanje travne ruše (gostota poganjkov ruše, floristična sestava, proizvodni potencial) na poskusu v Gotenici je ustrezalo razmeram, ko je v tleh malo hranil za rast travne ruše ter so tla delno skeletna in plitva. Ruša na tej lokaciji je bila namreč gojena na ekološki način ter gnojena z nizkimi odmerki živinskega gnojila.

157



Slika 3: Pridelek 1. in 2. košnje kot masa zračno suhega zelinja po obravnavanjih v poskusu v Gotenici v letu 2012.

4 DISKUSIJA

Rezultati naše raziskave so pokazali, da smo v tleh našli predvsem ogrce junijskega hrošča (*Amphimallon solstitiale*), julijskega hrošča (*Anomala dubia*), vrtnega hrošča (*Phyllopertha horticola*) in v manjšem obsegu tudi poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) ter gozdnega majskega hrošča (*Melolontha hippocastani*). Tuji viri (Huiting *et al.*, 2006) navajajo kot kritično število ogrcev L1 na travinju med 30 in 40 ogrcev/m². Ob uporabi vseh biotičnih pripravkov nam je uspelo število ogrcev v tleh spraviti pod gospodarski prag škodljivosti. Od preučevanih pripravkov je po dobri insekticidni učinkovitosti izstopal pripravek na podlagi aktivne snovi *B. thuringiensis* var. *tenebrionis*. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi v nekaterih sorodnih raziskavah (Koppenhöffer in Kaya, 1997; Koppenhöffer *et al.*, 2004), kjer so preučevani biotični agensi izkazali visoko stopnjo smrtnosti različnih vrst ogrcev v tleh.

Za ličinke L2 na travinju tuji viri navajajo kritično število med 20 in 30/m² (Huiting *et al.*, 2006). Ob uporabi vseh biotičnih pripravkov nam je uspelo število ogrcev v tleh spraviti pod gospodarski prag škodljivosti do junija. V avgustu se je njihovo število ponovno povečalo. Po drugi aplikaciji biotičnih agensov ob koncu avgusta se je število ogrcev (L2) v septembru, oktobru in novembru ponovno zmanjšalo pod gospodarski prag škodljivosti. Od preučevanih pripravkov je po zadovoljivi učinkovitosti izstopal pripravek na podlagi aktivne snovi *B. thuringiensis* var. *kurstaki* v kombinaciji z entomopatogeno ogorčico vrste *H. bacteriophora*. Koppenhöffer in Kaya (1997) poročata o učinkovitem sinergističnem delovanju omenjenih biotičnih agensov pri zatiranju različnih vrst ogrcev v tleh, kar smo potrdili tudi v našem poskusu. Tuji viri navajajo kot kritično število ličink L3 na travinju okoli 10/m² (Huiting *et al.*, 2006). V majskem terminu smo le ob uporabi pripravkov, katerih aktivno snov so predstavljale entomopatogene glive v kombinaciji z entomopatogenimi ogorčicami, populacijo ogrcev v tleh držali pod gospodarskim pragom škodljivosti. Ostali pripravki niso bili učinkoviti. S poletno aplikacijo biotičnih agensov nismo vplivali na zmanjšanje ogrcev (L3) v tleh z nobenim od preučevanih pripravkov.

Na podlagi naših enoletnih rezultatov zaključujemo, da je s preučevanimi biotičnimi agensi mogoče zatirati le mlajše razvojne stopnje ogrcev v tleh (L1 in L2), medtem ko so starejše razvojne stopnje (L3) z biotičnimi agensi težko obvladljive.

5 ZAHVALA

Raziskava, predstavljena v tem prispevku, je nastala s finančno pomočjo Javne agencije za raziskovalno dejavnost RS in Ministrstva za kmetijstvo in okolje v okviru CRP projekta V4 – 1104. Za tehnično pomoč pri poskusu se zahvaljujemo tehničnemu sodelavcu Jaki Rupniku. Posebna zahvala gre tudi gospodu Marku Kocjančiču, uporabniku travnika v Gotenici, kjer smo izvedli poskus.

6 LITERATURA

- Dhoj, G.C.Y., Keller, S., Nagel, P., Kafle, L. 2008. Virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against common white grubs in Nepal. *Formosan Entomol.* 28: 11-20.
- Genov, P. 1981. Food composition of Wild boar in north-eastern and western Poland. *Acta Theriologica* 26: 185-205.
- Huiting, H.F., Moraal, L.G., Griepink, F.C., Ester, A. 2006. Biology, control and luring of the cockchafer, *Melolontha melolontha*, current control possibilities and pheromones. *Applied Plant Research Unit AGV PPO no. 32 500475 00-I*.
- Kaya H.K., Gaugler R. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Ann. Rev. Entomol.*, 38: 181-206.
- Koppenhöffer, A.M., Kaya, H.K. 1997. Additive and Synergistic Interaction between Entomopathogenic Nematodes and *Bacillus thuringiensis* for Scarab Grub Control. *Biological Control* 8: 131-137.

- Koppenhöffer, A.M., Fuzy, E. M., Crocker, R., Gelernter, W., Polavarapu, S. 2004. Pathogenicity of *Steinernema scarabaei*, *Heterorhabditis bacteriophora* and *S. glaseri* to twelve white grub species. *Biocontrol Sci. Technol.* 14: 87-92.
- Laznik, Ž., Vidrih, M., Trdan, S. 2012. Effect of different entomopathogens against white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) in organic hay-making grassland. *Arch. Biol. Sci.* 64: 1235-1246.
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan S. 2009a. Efficacy of two strains of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) against third-stage larvae of common cockchafer (*Melolontha melolontha* [L.], Coleoptera, Scarabaeidae) under laboratory conditions. *Acta Agric. Slov.* 93: 293-299.
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Trdan S. 2009b. *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) – the first member from Heterorhabditidae family in Slovenia. *Acta Agric. Slov.* 93: 181-187.
- Požnenel A. 2005. Prerazmnožitev poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.) na Idrijskem. V: Zbornik predavanj in referatov 7. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Zreče, 8.-10. marec 2005. Maček J. (ur.). Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 476-478.

PREUČEVANJE INSEKTICIDNE UČINKOVITOSTI SAMOSTOJNE IN KOMBINIRANE UPORABE RAZLIČNIH NARAVNIH SNOVI PRI ZATIRANJU ČRNEGA ŽITNEGA ŽUŽKA (*Sitophilus granarius* [L.]

Stanislav TRDAN¹, Tanja BOHINC²

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

IZVLEČEK

V laboratorijskih razmerah smo preučevali insekticidno delovanje različnih okoljsko sprejemljivih snovi na smrtnost odraslih osebkov črnega žitnega žužka (*Sitophilus granarius*). Zrnje pšenice smo tretirali z diatomejsko zemljo (pripravek SilicoSec[®]), kremenovim peskom, listnim prahom drevesa *Azadirachta indica* (aktivna snov azadirachtin, pripravek Neem listni prah[®]) in lesnatim pepelom. Prav tako smo zrnje pšenice tretirali s kombinacijami diatomejske zemlje in lesnega pepela, listnega prahu in lesnega pepela, kremenovega peska in lesnega pepela ter s kombinacijo 4 substanc (diatomejske zemlje, lesnega pepela, listnega prahu in kremenovega peska). Pripravke smo aplicirali v različnih koncentracijah. Smrtnost odraslih osebkov smo preučevali pri treh temperaturah (20, 25 in 30°C) in dveh vrednostih relativne zračne vlage (55 in 75%). Smrtnost hroščev smo ugotavljali 7., 14. in 21. dan po izpostavitvi. Ugotovili smo signifikaten vpliv preučevanih snovi na smrtnost črnega žitnega žužka. Smrtnost imagov je bila signifikatno najvišja v obravnavanjih, kjer smo uporabili lesni pepel samostojno ali v kombinacijah z drugimi snovmi, in sicer pri samostojni uporabi lesnega pepela (2,5 u%) (69,73±2,52%), kombinaciji diatomejske zemlje (450 ppm) in lesnega pepela (2,5 u%) (71,94±2,40%), kombinaciji kremenovega peska (450 ppm) in lesnega pepela (2,5 u%) (68,72±2,80%) ter kombinaciji 4 substanc (diatomejske zemlje [225 ppm], lesnega pepela [1,25 u%], listnega prahu [0,625 u%] in 225 ppm kremenovega peska [68,76±2,75%]). Smrtnost hroščev je bila signifikatno višja pri nižji relativni zračni vlagi (56,06±1,36%) ter pri najvišji obravnavani temperaturi (48,09±1,63%). Ugotavljamo, da lesni pepel v samostojni ali kombinirani uporabi lahko predstavlja okoljsko sprejemljivo alternativo sintetičnim insekticidom pri zatiranju odraslih osebkov črnega žitnega žužka, za dokončno potrditev te teze pa moramo preučiti še delovanje omenjenih snovi na jajčeca in ličinke škodljivca.

Ključne besede: diatomejska zemlja, lesni pepel, kremenov pesek, listni prah drevesa *Azadirachta indica*, črni žitni žužek, *Sitophilus granarius*, učinkovitost

ABSTRACT

RESEARCH ON INSECTICIDAL EFFICACY OF SINGLE AND COMBINED USE OF DIFFERENT NATURAL SUBSTANCES AGAINST THE GRANARY WEEVIL (*Sitophilus granarius* L.)

Laboratory experiment was carried out to evaluate the insecticidal efficacy of different environmentally acceptable substances on the mortality of the granary weevil (*Sitophilus granarius*) adults. We treated wheat grains with diatomaceous earth (commercial formulation SilicoSec[®]), quartz sand, leaf powder of neem tree (active ingredient azadirachtin,

¹ prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² dr., raziskovalka, prav tam

commercial formulation Neem listni prah[®]), and wood ash. Wheat grains were also treated with combination of diatomaceous earth and wood ash, combination of leaf powder and wood ash, quartz sand and wood ash and with a combination of four different substances (diatomaceous earth, wood ash, leaf powder and quartz sand). Substances were applied at different concentrations. Mortality of the granary weevil adults was tested at 3 different temperatures (20, 25 in 30°C) and at 2 different relative humidity levels (55 and 75%). Mortality was evaluated 7, 14 and 21 days after exposure. We have detected significant impact of different substances on the mortality of the beetles. Significantly the highest mortality of the beetles was evaluated in treatments with wood ash in single or combined use, i.e. individual use of 2,5 w% wood ash (69.73±2.52%), and combined uses of diatomaceous earth (450 ppm) and 2.5 w% wood ash (71.94±2.40%), quartz sand (450 ppm) and 2.5 w% wood ash (68.72±2.80%), and diatomaceous earth (225 ppm), wood ash (1.25w%), leaf powder (0.625 w%), and quartz sand (225 ppm) (68.76±2.75%). We established that wood ash in single or combined use can perform environmentally acceptable alternative to synthetic insecticides in controlling granary weevil adults, however for final confirmation of this thesis we have to study the activity of the substances against the eggs and the larvae of the pest.

Key words: diatomaceous earth, wood ash, quartz sand, leaf powder of neem tree, granary weevil, *Sitophilus granarius*, efficacy

1 UVOD

161

Uporabo sintetičnih insekticidov za zatiranje skladiščnih škodljivih žuželk zaradi njihovega neciljnega delovanja in dejstva, da mnogi med njimi vplivajo na pojav rezistence, vse bolj izpodrivajo pripravki na podlagi rastlinskih snovi (piretrini idr.), inertni prašnati pripravki, rastlinski praški (Vayias et al., 2009) in eterična olja (Cardiet et al., 2012). Delovanje inertnih praškov na skladiščne škodljivce se najpogosteje pojasnjuje kot abrazivno delovanje na kutikulo škodljivcev, prek poškodovane kutikule pa žuželke izgubljajo vodo, kar posledično vpliva na njihovo izsušitev (desikacijo). Diatomejska zemlja, predstavnica inertnih praškov (Subramanyam in Roesli, 2000), je zaradi njene naravne zastopanosti v državah jugovzhodne Evrope povzročila zelo veliko zanimanje med raziskovalci (Andrić et al., 2012).

Med inertne praške pa uvrščamo tudi kremenov pesek in lesnati pepel (Subramanyam in Roesli, 2000). Delovanje kremenovega peska je prav tako kot pri diatomejski zemlji povezano z vsebnostjo SiO₂ (Rojht et al., 2010b), o insekticidnem delovanju lesnega pepela pa se poleg vpliva na izsušitev izpostavljenih organizmov najpogosteje govori v kontekstu zadrževanja razvoja ter oviranja dihanja ter gibanja žuželk (Gwinner et al., 1996; Hakhbijl, 2002). V naši raziskavi uporabljena diatomejska zemlja (pripravek SilicoSec[®]) namreč vsebuje 84,47 % SiO₂ (Rojht et al., 2010a), okoli 90 % SiO₂ najdemo v kremenčevem pesku (Rojht et al., 2010b), medtem ko lesnati pepel vsebuje 31,8 % SiO₂ (Abdullahi, 2006). V varstvu skladiščenega pridelka pred skladiščnimi škodljivimi žuželkami pa si lahko pomagamo tudi z uporabo prašnatih pripravkov rastlinskega izvora, kar je bilo uspešno dokazano že v nekaterih drugih raziskavah (Najafabadi, 2010), v našo raziskavo pa smo vključili listni prah drevesa *Azadirachta indica*.

Črni žitni žužek (*Sitophilus granarius* [L.]) spada med pomembne skladiščne škodljivce (Maceljski, 1999), ki lahko povzročijo škodo na pšenici, ječmenu, koruzi, in tudi na drugih žitih (Schwartz in Burkholder, 1991). Z našo raziskavo smo želeli preučiti učinkovitost samostojne ali kombinirane uporabe štirih naravnih prašnatih pripravkov za zatiranje črnega žitnega žužka, z namenom, da bi najučinkovitejše med njimi vključili v okoljsko sprejemljive strategije zatiranja črnega žitnega žužka.

2 MATERIALI IN METODE

2.1. Pripravki in žuželke

Zrnje pšenice, uporabljeno v laboratorijskem poskusu, smo pridobili v poljskem poskusu, ki je bil izveden na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v letu 2011. Pripravke SilicoSec® (Biofa GmbH Münsingen, Nemčija) nam je pred raziskavo posredoval dr. Nickolas Kavallieratos (Laboratory of Agricultural Entomology, Dept. of Entomology and Agricultural Zoology, Benaki Phytopathological Institute, Kifissia, Attica, Grčija), lesni pepel smo pridobili iz peči na trda goriva gospodinjstva Rupnik iz Logatca, pripravek Neem listni prah® smo kupili pri podjetju Azimut - Vester d.o.o. iz Tržiča (proizvajalec: Parker India Group, Tamil Nadu, Indija), kremenov pesek pa smo pridobili iz arhiva v Laboratoriju za entomologijo Biotehniške fakultete, v katerem je bil uporabljen v predhodnih raziskavah (Rojht *et al.*, 2010b).

V poskusu smo uporabili odrasle osebkke črnega žitnega žužka (*Sitophilus granarius*), pridobljene iz laboratorijske populacije, ki jo v Laboratoriju za entomologijo Biotehniške fakultete pri sobni temperaturi vzdržujemo od leta 2005.

2.2 Laboratorijski poskus

Poskus je potekal v Laboratoriju za entomologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Zrnje pšenice smo tretirali s štirimi različnimi samostojnimi pripravki v dveh koncentracijah, ki so predstavljala posamezna obravnavanja. Preostala obravnavanja so predstavljala kombinacijo izbranih pripravkov v različnih koncentracijah. Dodatno obravnavanje je predstavlja kontrola (netretirano žito). Insekticidno delovanje izbranih prašnatih pripravkov smo preučevali pri treh različnih temperaturah (20, 25 in 30°C) in pri dveh vrednostih relativne zračne vlage (Rh) (55 in 75%). Seznam pripravkov, s pripadajočimi koncentracijami in oznakami, je predstavljen v preglednici 1.

Preglednica 1: Seznam pripravkov, uporabljenih v raziskavi.
Table 1: List of natural substances, used in our research.

Oznaka	Pripravek	Koncentracija
1	SilicoSec®	450 ppm
2	SilicoSec®	900 ppm
3	Lesni pepel	5 u%
4	Lesni pepel	2,5 u%
5	SilicoSec® x lesni pepel	450 ppm x 2,5 u%
6	Neem listni prah®	1,25 u%
7	Neem listni prah®	2,5 u%
8	Neem listni prah® x lesni pepel	2,5 u% x 2,5 u%
9	Kremenov pesek	450 ppm
10	Kremenov pesek	900 ppm
11	Kremenov pesek x lesni pepel	450 ppm x 2,5 u%
12	SilicoSec® x lesni pepel x Neem listni prah® x kremenov pesek	225 ppm x 1,25u% x 0,625 u% x 225 u%

V plastične posode prostornine 2 l smo natehtali 500±0,10 g zrnja pšenice. V posamezno plastično posodo smo dodali izbrani prašnati pripravek oz. njihove kombinacije, nato smo jo namestili na stresalnik (Orbital Rotator tip 3040; distributer: Sanolabor), kjer so se omenjene posode pretresale 15-30 minut. S tem postopkom smo dosegli boljšo porazdelitev pripravka po površju pšeničnega zrnja. V vsako od 9 100 ml erlenmajeric (= posamezno obravnavanje)

smo nasuli $50 \pm 0,02$ zrnja pšenice in dodali 30 odraslih osebkov vrste *Sitophilus granarius*. Erlenmajerice smo pokrili z vrtno kopreno (100 % polipropilen), s čimer smo hroščem onemogočili pobeg, obenem pa jim je bilo omogočeno dihanje. Spola in starosti hroščev črnega žitnega žužka, uporabljenih v poskusu, nismo ugotavljali. Smrtnost hroščev smo ugotavljali 7., 14. in 21. dan po nastavitvi poskusa.

2.3 Statistična analiza podatkov

Korigirano smrtnost hroščev smo izračunali po Abbottovi formuli (Abbott, 1925). Rezultate poskusa smo statistično ovrednotili s programom Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics Centurion, 2009). Razliko med obravnavanji smo ovrednotili z analizo variance (ANOVA) in Duncanovim preizkusom mnogoterih primerjav ($P < 0,05$).

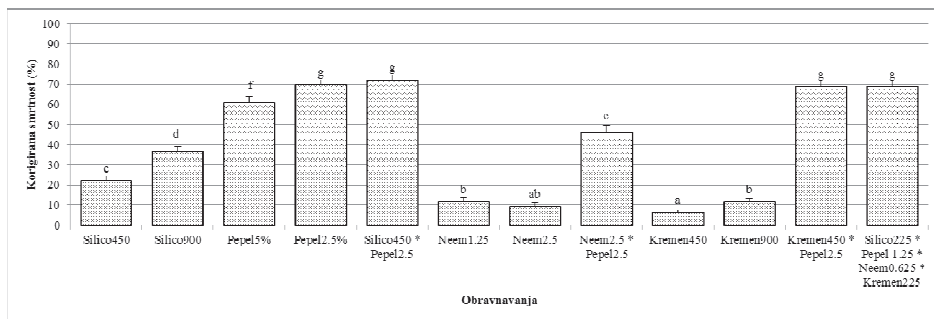
3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Generalna analiza

Z generalno statistično analizo smo ugotovili, da je na smrtnost črnega žitnega žužka signifikantno vplivala vrsta obravnavanja ($F=445,56$; $Df=11$; $P < 0,0001$), temperatura ($F=168,84$; $Df=2$; $P < 0,0001$), relativna zračna vlaga (Rh) ($F=1833,71$; $Df=1$; $P < 0,0001$) ter termin ocenjevanja ($F=646,98$; $Df=2$; $P < 0,001$). Tudi interakcije med obravnavanjem in temperaturo ($F=4585,36$; $Df=32$; $P < 0,0001$), obravnavanjem in relativno zračno vlago ($F=28,54$; $Df=11$; $P < 0,0001$), obravnavanjem in terminom ocenjevanja ($F=10,43$; $Df=22$; $P < 0,0001$), temperaturo in relativno zračno vlago ($F=315,09$; $Df=2$; $P < 0,0001$), temperaturo in terminom ocenjevanja ($F=8,27$; $Df=4$; $P < 0,0001$), Rh in terminom ocenjevanja ($F=10,02$; $Df=2$; $P < 0,0001$) je imelo signifikanten vpliv na smrtnost imagov.

Smrtnost imagov je bila med najnižjimi v obravnavanjih, kjer smo žito tretirali z 450 ppm kremenovega peska ($6,26 \pm 1,29$), 2,5 u% listnega prahu ($9,25 \pm 1,81$ %) in 900 ppm kremenovega peska ($11,71 \pm 1,70$ %). Signifikantno najvišjo smrtnost smo ugotovili v obravnavanjih, kjer smo uporabili 2,5 u% lesni pepel ($69,37 \pm 2,52$ %), kombinacijo 2,5 u% lesnega pepela in 450 ppm pripravka SilicoSec ($71,94 \pm 2,40$ %), kombinacijo 2,5 u% lesnega pepela in 450 ppm kremenovega peska ($68,22 \pm 2,80$ %) ter v obravnavanju, kjer smo uporabili kombinacijo 4 pripravkov (225 ppm SilicoSec, 1,25 u% lesnega pepela, 0,625 u% listnega prahu in 225 ppm kremenovega peska) je bila smrtnost $68,76 \pm 2,75$ % (slika 1).

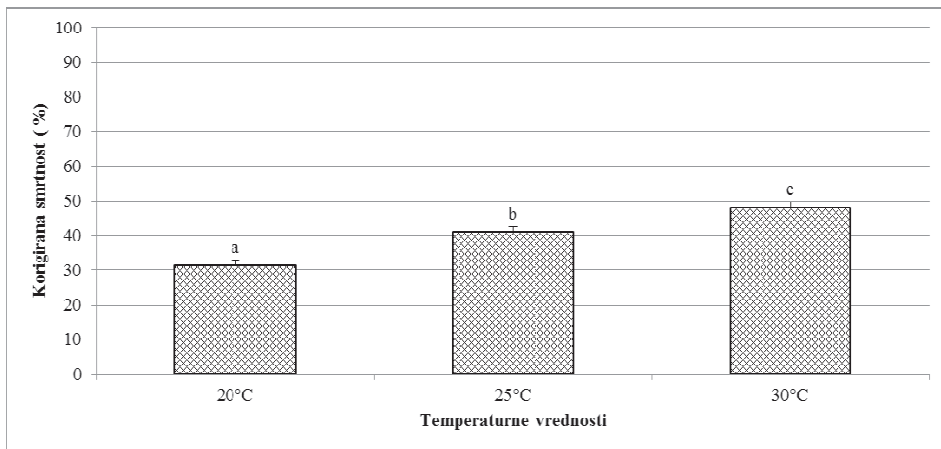
163



Slika 1: Korigirana smrtnost (%) (\pm SE) odraslih osebkov črnega žitnega žužka glede na posamezno obravnavanje.

Figure 1: Corrected mortality (%) (\pm SE) of granary weevil adults according to different treatments.

Glede na analizo podatkov poskusa lahko govorimo o signifikantnem vplivu višje temperature na smrtnost črnega žitnega žuška, saj je bila pri 30 °C dosežena 48,09±1,63%, pri 20 °C pa 31,53±1,43% (slika 2). Višja smrtnost je bila dosežena tudi pri nižji Rh vrednosti (56,07±1,36%), medtem ko smo v obravnavanih izpostavljenih 75 % relativni zračni vlagi ugotovili 24,41±0,97% smrtnost hroščev.

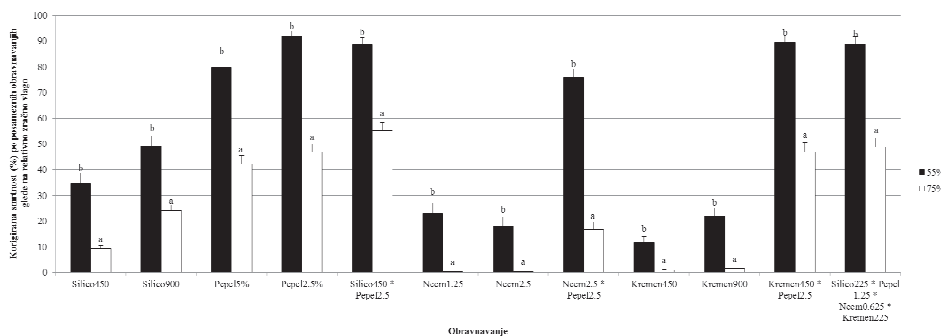


Slika 2: Korigirana smrtnost (%) (±SE) odraslih osebkov črnega žitnega žuška glede na temperaturo (°C).
Figure 2: Corrected mortality (%) (± SE) of granary weevil adults according to temperature (°C).

164

3.2 Vpliv relativne zračne vlage na smrtnost odraslih osebkov črnega žitnega žuška

V obravnavanih, izpostavljenih 55 % relativni zračni, smo ugotovili, da je na smrtnost hroščev signifikatno vplivala vrsta pripravka (F=102,24; Df=11; P<0,0001), temperatura (F=80,17; Df=2; P<0,0001) in čas izpostavljenosti hroščev (F=58,65; Df=2; P<0,0001). Signifikatno najnižjo smrtnost pri 55 % smo ugotovili v obravnavanih s kremenovim peskom (450 ppm) (11,86±2,44 %), medtem ko smo v obravnavanih z diatomejsko zemljo (900 ppm) ugotovili 49,12±4,07 % smrtnost.



Slika 3: Korigirana smrtnost (%) odraslih osebkov črnega žitnega žuška glede na relativno zračno vlago (%).
Figure 3: Corrected mortality (%) of granary weevil adults according to relative humidity levels (%).

V žitu, ki smo ga tretirali z 2,5 u% lesnega pepela, smo ugotovili $92,00 \pm 1,81$ % smrtnost, $88,82 \pm 2,72$ % smrtnost hroščev pa smo ugotovili v obravnavanjih z diatomejsko zemljo (SilicoSec) 225 ppm, 1,25 u% lesnega pepela, 0,625 u% listnega prahu in 225 ppm kremenovega peska (slika 3). Smrtnost odraslih osebkov pri 55 % relativni zračni vlagi je bila signifikantno najvišja pri 30°C ($76,07 \pm 1,92\%$), pri 20°C pa je bila smrtnost imagov nekaj več kot 37% ($37,07 \pm 2,20\%$). Po 21 dneh smo v obravnavanjih ugotovili 70 % smrtnost.

Na drugi strani smo v obravnavanjih, izpostavljenih 75% relativni zračni vlagi, ravno tako ugotovili signifikantne razlike v smrtnosti hroščev med posameznimi obravnavami ($F=84,14$; $Df=11$; $P<0,0001$). Prav tako lahko govorimo o signifikantnem vplivu temperature ($F=5,06$; $Df=2$; $P=0,0065$) in časa izpostavljenosti ($F=106,22$; $Df=2$; $P<0,0001$) na smrtnost hroščev. Smrtnost imagov je bila signifikantno najvišja v obravnavanju s kombinacijo lesnega pepela (2,5 u%) in pripravka SilicoSec (450 ppm). V obravnavanju z 1,25 u% in 2,5 u% listnim prahom smo ugotovili smrtnost, ki je bila manjša od 1%. Smrtnost, ugotovljena v obravnavanju z 2,5 u% lesnim pepelom je znašala $46,47 \pm 3,06\%$, v obravnavanju z 900 ppm kremenovega peska pa smo ugotovili $1,49 \pm 0,27\%$ smrtnost hroščev. SilicoSec v koncentraciji 900 ppm je povzročil 24% smrtnost hroščev v vzorcih žita. Rezultati generalne analize kažejo, da je kombinacija 75% relativne zračne vlage in 20°C povzročila $26,01 \pm 1,78$ % smrtnost, medtem ko je bila smrtnost pri omenjeni vlagi in 30°C signifikantno najnižja. Pri 75% relativni vlagi smo po 7 dneh ugotovili $8,96 \pm 0,72\%$ smrtnost, medtem ko je bila ugotovljena smrtnost po 21 dneh poskusa $40,38 \pm 2,10\%$.

Preučevanje alternativnih načinov zatiranja skladiščnih škodljivcev se v zadnjih letih predvsem usmerja v delovanje naravnih pripravkov rastlinskega izvora. Preučevanje insekticidnega delovanja diatomejske zemlje na smrtnost imagov je bila že doslej intenzivno preučevana (Mewis in Ulrichs, 2001; Vayias *et al.*, 2009). Danes želimo tudi z uporabo mešanic različnih naravnih pripravkov zmanjšati količino samostojno uporabljenih pripravkov, na primer diatomejske zemlje, in s tem omogočiti tudi boljšo učinkovitost (Athanassiou *et al.*, 2007). Tako se je uporaba insekticida spinosad v kombinaciji z diatomejsko zemljo pokazala za učinkovito (Vayias *et al.*, 2009), to pa velja tudi za kombinacijo diatomejske zemlje in piretrina (Vayias *et al.*, 2006).

V našem poskusu se je za eno od učinkovitejših kombinacij izkazala tista, kjer smo diatomejski zemlji v koncentraciji 450 ppm dodali 2,5 u% lesnega pepela, v splošnem pa ugotavljamo, da je najboljše insekticidno delovanje na odrasle osebkove riževega žužka pokazal lesni pepel v samostojni ali kombinirani uporabi z drugimi preučevanimi naravnimi pripravki. Predhodno dokazano zadovoljivo insekticidno delovanje listnega prahu drevesa *Azadirachta indica* (Najafabadi *et al.*, 2010), se v našem primeru ni izkazalo za učinkovito. Ravno tako lahko govorimo o zanemarljivem insekticidnem delovanju kremenčevega peska na smrtnost imagov, kar potrjujejo tudi avtorji v nekaterih prejšnjih raziskavah (Rojht *et al.*, 2010b).

4 SKLEPI

Glede na rezultate našega poskusa lahko sklepamo, da je najboljše insekticidno delovanje na odrasle osebkove črnega žitnega žužka izkazal lesni pepel, tako ob samostojni kot kombinirani uporabi, čeprav smo uporabili nižje koncentracije kot jih navaja literatura (Tadese in Basedow, 2005). V vseh obravnavanjih, v katerih smo namreč uporabili ta lesni ostanek, smo generalno ugotovili nad 60 % smrtnost hroščev, pri 55 % relativni zračni vlagi pa celo nad 75 % smrtnost. Ostali trije pripravki so se pri samostojni uporabi izkazali za nezadostno učinkovite, v kombinacijah z lesnim pepelom pa se je povečalo tudi njihovo insekticidno delovanje. Kljub temu v nobenem obravnavanju nismo ugotovili 100% smrtnosti hroščev, zato bomo v prihodnje izvajali nove poskuse z namenom določitve ustreznega (višjega) odmerka lesnega pepela in/ali ustreznjših kombinacij lesnega pepela z drugimi naravnimi

pripravki. Dokončna potrditev teze o lesnem pepelu kot ustrezni alternativni sintetičnim insekticidom pri zatiranju odraslih osebkov črnega žitnega žužka pa bo mogoča šele po natančni preučitvi njegovega delovanja na jajčeca in ličinke škodljivca, česar v pričujočem poskusu nismo storili.

5 ZAHVALA

Prispevek je nastal s finančno pomočjo Ministrstva za kmetijstvo in okolje – Uprave RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin v okviru strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin. Avtorja se zahvaljujeva tudi dr. Nickolasu Kavallieratosu za posredovani vzorec pripravka SilicoSec® in Jaki Rupniku za tehnično pomoč.

6 LITERATURA

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Abdullahi, M. 2006. Characteristics of wood ash/OPC Concrete. *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, 8: 9-16.
- Andrić, G.G., Marković, M.M., Adamović, M., Daković, A., Prazić Golić, M., Kljajić, P.J. 2012. Insecticidal potencial of natural zeolite and diatomaceous earth formulations against rice weevil (*Coleoptera: Curculionidae*) and red flour beetle (*Coleoptera: Tenebrionidae*). *Journal of Economic Entomology*, 105, 2: 670-678.
- Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Meletsis, C.M. 2007. Insecticidal effect of three diatomaceous earth formulations, applied alone or in combination against three stored-product beetle species on wheat and maize. *Journal of Stored Products Research*, 43: 330-334.
- Cardiet, G., Fuzeau, B., Barreau, C., Fleurat-Lessard, F. 2012. Contant and fumigant toxicity of some essential oils constituents against a grain pest *Sitophilus oryzae* and two fungi, *Aspergillus westerdijkiae* and *Fusarium graminearum*. *Journal of Pest Science*, 85:351-358.
- Gwinner, J., Harnisch, R., Mück, O. 1996. Manual of the prevention of post-harvest grain losses. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH, Eschborn, 338 str.
- Hakbijl, T. 2002. The traditional, historical and prehistoric use of ashes as an insecticide, with an experimental study on the insecticidal efficacy of washed ash. *Environmental Archaeology*, 7: 13-22.
- Korunić, Z. 1998. Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. *Journal of Stored Product Research*, 34, 2, 3: 87-97.
- Maceljiski, M. 1999. Poljoprivredna entomologija. Čakovec, Sveučilište u Zagrebu: 464 str.
- Mewis, I., Ulrichs, C. 2001. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum*, *Tenebrio molitor*, *Sitophilus granarius* and *Plodia interpunctella*. *Journal of Stored Products Research*, 37: 153-164.
- Najafabadi, S.S.M. 2010. Evaluate effects of *Azadirachta indica* Adr. Juss. leaf powder and *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. seed and leaf powder on stored product pests (*Trogoderma granarium* and barley). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25, 4: 513-527.
- Rojht, H., Horvat, A., Athanassiou, C.G., Vayias, B.J., Tomanović, Ž., Trdan, S. 2010a. Impact of geochemical composition of diatomaceous earth on the insecticidal activity against adults of *Sitophilus oryzae* (L.) (*Coleoptera: Curculionidae*). *Journal of Pest Science*, 83: 429-436.
- Rojht, H., Horvat, A., Trdan, S. 2010b. Local Slovenian quartz sands have low insecticidal activity against rice weevil (*Sitophilus oryzae* [L.], *Coleoptera, Curculionidae*) adults. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8, 3-4: 500-505.
- Schwartz, B.E., Burkholder, W.E. 1991. Development of the granary weevil (*Coleoptera, Curculionidae*) on barley, corn, oats, rice and wheat. *Journal of Economic Entomology*, 84, 3: 1047-1052. *Journal of Economic Entomology*, 84,3: 1047-1052.
- Subramyam, B., Roesli, R. 2000. Inert dusts. V: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (ur.). Alternatives to pesticide in stored-product IPM. Kluwer Academic Publishers, 321-380 s.
- Tadesse, A., Basedow, T. 2005. Laboratory and field studies on the effect of natural control meausres against insect pests in stored maze in Ethiopia. *Journal of Plant Disease and Protection*. 112, 2:156-172.
- Trdan, S., Bohinc, T. 2011. Laboratorijsko preizkušanje insekticidnega delovanja diatomske zemlje, prahu prave sivke in njivske preslice na fižolarja (*Acanthoscelides obtectus* [Say], *Coleoptera, Bruchidae*). V: Maček, J., Trdan, S. Zbornik predavanj in referatov 10. slovenskega posvetovanja o

- varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Podčetrtek, 1.-2. Marec 2011. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 197-202.
- Vayias, B.J., Athanassiou, C.G., Buchelos, C.T. 2006. Evaluation of three diatomaceous earth and one natural pyrethrum formulations against pupae of *Tribolium confusum* duVal (Coleoptera: Tenebrionidae) on wheat and flour. *Crop Protection*, 25: 766-772.
- Vayias, B.J., Athanassiou, C.G., Buchelos, C.T. 2009. Effectiveness of spinosad combined with diatomaceous earth against different European strains of *Tribolium confusum* du Val (Coleoptera: Tenebrionidae): influence of commodity and temperature. *Journal of Stored Products Research*, 45: 165-176.

DALJINSKO ZAZNAVANJE S FEROMONSKO VABO NA PRIMERU KORUZNE VEŠČE (*Ostrinia nubilalis* [Hübner])

Karmen RODIČ¹, Domen BAJEC², Mateja ŠTEFANČIČ³, Matej ŠTEFANČIČ⁴,
Peter ČEBOKLI⁵

^{1,2} KGZS – Zavod Novo mesto, Služba za varstvo rastlin, Novo mesto
^{3,4,5} EFOS informacijske rešitve d.o.o., Razdrto

IZVLEČEK

Uvajanje novih tehnologij v opazovalno napovedovalno dejavnost je neizbežen proces, ki ga zahteva racionalizacija postopkov. Dosedanja uporaba feromonskih in drugih privabilnih vab predvideva terenske vizualne preglede, ki so zamudni, omogočajo človeške napake in so materialno potrošni. Z uporabo video kamer visoke ločljivosti, prenosa podatkov na daljavo preko GSM omrežja in razvijanjem računalniškega prepoznavanja nadzorovanih objektov, postaja dostopnejše tudi daljinsko zaznavanje škodljivih organizmov. Pri razvoju tovrstnih tehnologij smo v vlogi uporabnika med oblikovanjem naprave ePestAlert sodelovali s podjetjem EFOS informacijske rešitve. Naprava je bila v preizkušanju in razvijanju med rastno dobo 2012. Njeno funkcionalnost smo vrednotili s spremljanjem pojava metuljev koruzne veščice (*Ostrinia nubilalis* [Hübner]), ki se kot polifagni škodljivi organizem pojavlja na različnih področjih kmetijske pridelave. V poljedelskih kulturah našega okolja napada posevke koruze, hmelja, prosa, konoplje, medtem ko jo na vrtninah najdemo v papriki. Obstajajo tudi znamenja napadov jablane, a jih do sedaj še nismo potrdili. Izbor opazovanega organizma je temeljil na njegovem gospodarskem pomenu, zahtevnosti oblikovanja lovilnih ohišij in morfoloških lastnostih vrste, ki omogočajo hitrejšo prepoznavanje z uporabo metod računalniškega vida.

Ključne besede: daljinsko zaznavanje, feromonska vaba, koruzna veščica, *Ostrinia nubilalis*, računalniški vid

ABSTRACT

REMOTE SENSING WITH PHEROMONE TRAP ON EXAMPLE OF EUROPEAN CORN BORER (*Ostrinia nubilalis* [Hübner])

Introduction of new technologies in agricultural forecasting service is inevitable process, which is required by rationalisation of procedures. Present use of pheromone and others attractant traps anticipates field visual inspections, which are delaying, allow human mistakes and are material consumable. With high resolution video cameras through GSM data transfer integration and development of computerized recognition of monitored objects, also remote sensing of harmful organisms becomes available. As an operator of such technologies we teamed up with EFOS informacijske rešitve company to design ePestAlert device. We tested the device through growing season 2012. Its functionality was assessed by monitoring of European corn borer (*Ostrinia nubilalis* [Hübner]) moths, which occurs as a polyphagous harmful organism in different crop types. In agriculture of our region it attacks corn, hops,

¹ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, SI-8000 Novo mesto

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ dr. agr. znan., Razdrto 47b, SI-6225 Hruševje

⁴ univ. dipl. inž. rač. in inf., prav tam

⁵ mag. rač. in inf., prav tam

millet, hemp, while in vegetables gives preference to pepper. There are some indications of apple tree and -fruit attacks, however not yet confirmed. Selection of monitored organism is established on economic significance, difficulty of trap designing and morphological characteristics of the species which allow faster recognition using computer vision techniques.

Key words: remote sensing, pheromone trap, European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, computer vision

1 UVOD

Različna privabila in pasti so zelo uporabni pripomočki za spremljanje pojava in razvoja populacij škodljivih žuželk (monitoring), kar se izvaja z namenom določanja potrebe zatiranja škodljivcev in časovne opredelitve potrebnih ukrepov. Z izvajanjem monitoringa torej lahko izboljšamo učinkovitost aplikacije insekticidov (Weinzierl in sod., 2005).

Spremljanje pojava in razvoja populacij se lahko izvaja za veliko večino škodljivcev, predvsem pa je pomembno pri gospodarsko pomembnih škodljivih organizmih. Eden od takih je koruzna večča (*Ostrinia nubilalis* [Hübner]). V Sloveniji omenjena škodljiva vrsta metuljkova povzroča največjo škodo predvsem na koruzi in hmelju, čeprav jo vse pogosteje srečujemo tudi pri pridelavi zelenjave (npr. paprike, paradižnika, fižola) kot tudi na okrasnih rastlinah (npr. dalijah, krizantemah, gladijolah) (Rak Cizej in sod., 2010).

Dosedanja uporaba feromonskih vab za spremljanje populacij škodljivcev v nasadih predvideva redne terenske vizualne preglede. Z uporabo video kamer visoke ločljivosti, prenosa podatkov na daljavo preko GSM omrežja in razvojem računalniškega prepoznavanja nadzorovanih škodljivcev postaja dostopnejše tudi tako imenovano daljinsko zaznavanje škodljivih organizmov.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Sistem ePestAlert

Avtomatski monitoring je bil izveden z napravo ePestAlert (kasneje TrapView). Naprava je bila v preizkušanju in razvijanju med rastno dobo 2012. Gre za modificirano delta past, ki se v klasičnem monitoringu uporablja za sledenje pojava različnih nočnih metuljev, katerih gosenice so najpomembnejši škodljivci različnih kmetijskih rastlin. ePestAlert je kombinacija naprave na terenu in spletne oz. mobilne aplikacije. Naprava na terenu je zeleno ohišje iz valovitega polipropilena, v katerega je vstavljena elektronika, ki je preko kabla povezana s sončno celico - ta napaja baterijo, zaradi česar je naprava na terenu popolnoma neodvisna. Past potrebuje tako kot klasične pasti neko privabilo, ki učinkovito in selektivno privabi ciljne žuželke - običajno je to feromon, lahko pa tudi kakšna druga snov iz skupine semiokemikalij. Sistem 6 kamer VGA resolucije (oddaljenost od objekta slikanja je bila 11-12 cm) posname posamezne odseke lepljive plošče. Slike se zapakirajo tako, da je prenos podatkov čim manjši in se s terena prenesejo preko GPRS protokola v centralni strežnik. Tu jih različni programi obdelajo in prikažejo uporabniku v obliki foto posnetka lepljive plošče v spletni oz. mobilni aplikaciji. Uporabnik lahko z računalniškega ekrana ali mobilnega telefona odčita podatke o ulovu žuželk na lepljivi plošči v pasti, ne da bi mu bilo potrebno oditi na teren. Naprava ima možnost nastavitve časa proženja kamer z omejitvijo na nočni čas. Moč baterije prenese do 4 slikanja dnevno (Štefančič in sod., 2012). Slike ulovljenih žuželk je možno spremljati prek aplikacije Trapwiew, ki hkrati uporabniku omogoča pregled zadnjih in zgodovinskih posnetkov v celotni sezoni.

2.2 Objekt nadzora

Kot objekt nadzora smo zaradi naraščajočega gospodarskega pomena, morfoloških značilnosti vrste, ter zahtevnosti spremljanja s tovrstnimi metodami izbrali koruzno večšo (*Ostrinia nubilalis* [Hübner]).

Metulji koruzne večše letijo v večernih urah in ponoči. Podnevi počivajo na spodnji strani listov rastlin in pri tleh npr. na plevelih. So fotofili, kar pomeni, da jih privlači vir svetlobe. Njihovo dinamiko leta že preko 30 let spremljajo s svetlobno vabo na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) v Žalcu (Rak Cizej in sod., 2008). Svetlobna vaba se je v praksi izkazala za eno bolj uspešnih metod spremljanja metuljev koruzne večše.

Po dosedanjih izkušnjah je lov s pomočjo feromonskih vab manj zanesljiv iz več razlogov:

- uspešnost lova na feromonske vabe določajo rasno specifični feromoni. Na podlagi ugotovitev Rak Cizej-eve in sodelavcev v 2010 in analize lastnih vzorčenj metuljev koruzne večše (Olsson, 2010) smo izhajali, da je na območju JV Slovenije zastopana in prevladujoča 'E rasa' koruzne večše. Kot privabilo smo zato uporabili testne feromone za raso E, pripravljene pri podjetju Trece Inc. (ECB NY).

- tip lovilnega ohišja: Rak Cizej s sodelavci (2010) opisuje, da med najbolj zanesljive vabe za spremljanje koruzne večše na koruzi sodijo vabe iz mreže v obliki stožca. Poleg oblike vabe je pomembna tudi njena postavitev, kar je odvisno od višine rastline. V preizkušanju naprave ePestAlert smo sprva uporabili modificirano delta ohišje z manjšim premerom vhodne odprtine (5×5×5 cm), trikotne oblike.

- specifične posebnosti oblikovanja lovilne pasti: V procesu oblikovanja lovilne pasti je potrebno upoštevati zahteve posameznih vrst žuželk, katerim je lovilna past namenjena. Pomembna je tako barva, oblika ter material ohišja, kakor tudi velikost, oblika in postavitev odprtin.

- primerjalna vaba: Kot model primerjalne vabe smo izbrali na koruzni večši že preizkušen tip modificirane lijaste pasti VARL (CsalomN^R, MTA NKI), s katerim smo imeli v preteklosti dovolj dobre izkušnje. V kombinaciji z insekticidnim usmrtilnikom tovrstni tip pasti omogoča lov fizično nepoškodovanih osebkov, kar je dobrodošlo za nadaljnje postopke določanja in potrjevanja opazovanih vrst. Uporaba feromonskih privabil je bila identična testni vabi. Postavitev primerjalne vabe je bila v oddaljenosti 200 m od testnega modela.

- lega lovilne naprave: Izбира lokacije postavitve testirane naprave je temeljila na zadostni zastopanosti gostiteljskih rastlin opazovanega objekta. Izbrali smo lego z nasadom paprike, v neposredni bližini so bili tudi večji posevki koruze. Lokacija postavitve je bila Mali Podlog, Leskovec pri Krškem (x: 50.85.149; y: 534.440). Koruzna večša se je na območju JV Slovenije do sedaj v večjem obsegu pojavlja na posevkih paprike (Bajec, 2004 in 2009; Tomše, 2003 in 2005 - 2008), zato smo se odločili, da feromonsko vabo postavimo ravno tja. Kot dodaten dejavnik izbire lokacije je prispevala tudi neposredna bližina drugih gostiteljskih rastlin (polja koruze).

Testirano napravo smo aktivirali 02.07.2012.

3 REZULTATI

Prve metuljčke druge generacije koruzne večše smo na feromonsko vabo ePestAlert ulovili 07.08.2012. Na vabi ePestAlert smo skupno ujeli 3 osebkke koruzne večše, na kontrolni vabi tipa VARL pa 1 osebek. Upoštevajoč predhodne izkušnje z lovom na feromonske vabe v primerjavi s svetlobnimi privabilnimi sredstvi, je rezultat zadovoljiv. Ulove je beležila in dnevno prikazovala spletna aplikacija Trapwiev. Aplikacija uporabniku omogoča tudi vpogled v zgodovino dogodkov skozi celotno rastno dobo, tako da imamo zabeležene tudi dnevne ulove ciljnih nočnih metuljev.

4 SKLEPI

Pri izvajanju opazovalne napovedovalne dejavnosti je podatek o prvem pojavu škodljivega organizma ključnega pomena. Ravno tako pomembno je redno in pogosto beleženje pojavov. Uporaba avtomatskih naprav, ki omogočajo daljinsko zaznavanje, lahko znatno zmanjša stroške pridelave. Poseben poudarek temelji na racionalizaciji postopkov, posrednem zmanjšanju obremenjenosti okolja ter arhiviranju zabeležk kot možnost naknadnega dodatnega vrednotenja meritev. Rezultati so preliminarne narave, z avtomatskim monitoringom pa bomo nadaljevali tudi v prihodnjih letih, saj menimo da je metoda obetavna, avtomatizacija kmetijstva pa neizogibna in hkrati nujno potrebna.

5 ZAHVALA

Podjetju Trece Inc. se zahvaljujemo za podarjene feromone uporabljene pri spremljanju koruzne vešče (*Ostrinia nubilalis* [Hübner]).

6 LITERATURA

- Bajec, D., Tomše, S., Rodič, K., Peterlin, A. 2004 in 2009. Letna poročila o izvajanju nalog iz področja zdravstvenega varstva rastlin na Kmetijsko gozdarskem zavodu Novo mesto: Izvajanje opazovalno napovedovalni dejavnosti. Novo mesto, KGZS-Zavod Novo mesto.
- Shannon, B., Olsson, S.B., Subaharan, K., Groot, A.T., Dekker, T., Heckel, D.G., Hansson, B.S. 2010. *Ostrinia* revisited: Evidence for sex linkage in European Corn Borer *Ostrinia nubilalis* (Hübner) pheromone reception. *BMC Evolutionary Biology*. 10/285: 1471-2148
- Rak Cizej, M., Karpati Z., Leskošek, G., Radišek, S. 2010. Določitev rase koruzne vešče (*Ostrinia nubilalis* Hübner) v Savinjski dolini; preliminaren poskus spremljanja moških metuljev s feromonsko vabo. *Hmeljarski bilten*, 17: 65-73
- Rak Cizej, M., Radišek, S., Leskošek, G. 2008. Koruzna (prosena) veščica vse pogostejša škodljivka naših hmeljišč. *Hmeljar (Žalec)*, letnik 70, številka 8: 90-92.
- Štefancič, M., Čebokli P., Štefancič, M. 2012. Monitoring škodljivih žuželk z uporabo informacijske tehnologije. Zbornik referatov 3. Slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško, 21.-23. november 2012, 2. del. Ljubljana, Strokovno sadjarsko društvo Slovenije, 2012: 237-244.
- Tomše, S., Bajec, D., Rodič, K., Peterlin, A. 2003 in 2005-2008. Letna poročila o izvajanju nalog iz področja zdravstvenega varstva rastlin na Kmetijsko gozdarskem zavodu Novo mesto: Izvajanje opazovalno napovedovalni dejavnosti. Novo mesto, KGZS-Zavod Novo mesto.
- Weinzierl R., Henn T., Koehler, P.G., Tucker, C.L. 2005. Insect attractants and traps. Dostopno na: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN08000.pdf> [29.03.2013]

REZULTATI PREIZKUŠANJA HERBICIDOV V KORUZI V PRIDELOVALNI SEZONI 2012

Stanislav VAJS¹, Mario LEŠNIK², Jože MIKLAVC³, Boštjan MATKO⁴, Miroslav MEŠL⁵,
Marjeta MIKLAVC⁶

^{1,2} Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Maribor, Pivola
^{3,4,5,6} Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod Maribor, Maribor

IZVLEČEK

V poljskem poskusu smo preučevali biotično učinkovitost herbicidov na plevela v posevku koruze v pridelovalni sezoni 2012. Poskus je bil zasnovan na eksperimentalni postaji Fakultete za kmetijstvo in biosistemske vede v Hočah pri Mariboru v bločni zasnovi s 14 obravnavanji v štirih ponovitvah. Uporabili smo herbicidne kombinacije na podlagi naslednjih aktivnih snovi: tritosulfuron, dikamba, S - metalaklor, dimetanamid, bentazon, terbutilazin, mezotrion, foramsulfuron, jodosulfuron-metil natrij, 2,4-D, nikosulfuron, tembotrion, izoksafutol, rimsulfuron, florasulam, prosulfuron in pendimetalin. Nanos je bil izveden z nahrbtno škropilnico na stisnjen zrak Gloria proizvajalca BASF v štirih različnih terminih. Poraba škropilne brozge je znašala 350 l ha⁻¹. V prispevku so predstavljeni rezultati učinkovitosti herbicidov.

Ključne besede: herbicidi, koruza, biotična učinkovitost, pokrovnost, pleveli

ABSTRACT

EFFICIENCY TRIALS OF HERBICIDE MIXTURES FOR 2012 MAIZE GROWING SEASON

The field trial was carried out at the experimental station of the Faculty of Agriculture and Life Sciences in Hoče near Maribor to study the efficiency of herbicides for weed control in maize stand. Trial was designed as randomized block design with 14 treatments in four replications. We tested combinations of herbicides based on the following active substances: tritosulfurone, dicamba, S – metalachlor, dimethanamid, bentazone, terbuthylazine, mesotrione, foramsulfurone, iodosulfuron methyl-sodium, 2,4 D, nicosulfurone, tembotrione, isoxaflutole, rimsulfurone, florasulame, prosulfurone and pendimethaline. Herbicides were applied by knapsack sprayer Gloria BASF at four different periods in spray volume of 350 l ha⁻¹. In the present paper, the data on efficacy of individual herbicide mixtures for the control of individual weeds species are presented.

Keywords: herbicides, corn, efficiency, coverage, weeds

1 UVOD

Koruza je najbolj pomembna poljščina v Sloveniji. Način izvajanja agrotehnik v posevkih koruze ima pomembne ekonomske in okoljske posledice. Pri integriranem pridelovanju

¹ mag., Pivola 10, SI-2311 Hoče

² prof. dr., prav tam

³ mag., Vinarska 14, SI-2000 Maribor

⁴ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁵ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁶ univ. dipl. inž. agr., prav tam

gojenih rastlin skušamo čim natančneje določiti potrebo po izvajanju zatiralnih ukrepov. Osnovno pravilo je, da je zatiranje ekonomsko smiselno, kadar so izgube pridelka (kakovostne in količinske) večje od stroškov zatiranja. V zadnjih treh pridelovalnih sezonah se je vrednost pridelka koruze na račun višjih odkupnih cen izrazito povečala, zaradi česar so se posledično spremenili pragovi škodljivosti. Natančno moramo poznati kratkoročne in dolgoročne vidike izgube pridelka in vse druge izgube, ki lahko nastanejo (težave pri spravilu pridelkov, povečane primesi, povečani stroški za sušenje, ...) (Vajs, 2008).

Pomemben del neugodnih učinkov kmetijske pridelave (npr. pojav nitratov in herbicidov v pitni vodi) izvira iz napak v izvedbi agrotehnike. Za zatiranje plevelov imamo na voljo veliko število dokaj učinkovitih herbicidov, vendar rezultati zatiranja večkrat niso zadovoljivi, ker se pojavijo napake v izbiri herbicidov, napake v terminu aplikacije, ali pa je delovanje herbicidov zmanjšano zaradi neugodnih vremenskih razmer (npr. suša ali dolgotrajno deževje in zastajanje vode). Kljub veliki izbiri herbicidov se večkrat zgodi, da plevelov ne uspemo zatreti do stopnje, ko je njihova škodljivost še gospodarsko sprejemljiva. Pogosto so njihve močno zapleveljene z zelo različnimi skupinami plevelov (npr. mešanice prosastih trav, trajnih plevelov in novih invazivnih plevelov), in je potrebno natančno presoditi, katera je najbolj optimalna mešanica herbicidov. Še posebno je to pomembno pri začetnem pojavu novih invazivnih plevelov, kjer moramo zanesljivo doseči učinkovitost nad 95 %, če želimo preprečiti hitro povečevanje začetnih populacij. Takšne so njihve zapleveljene s pleveli, kot so: *Abutilon theophrasti*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Setaria faberi*, *Panicum dichotomiflorum*, *Iva xanthifolia*, *Xanthium italicum*, *Cyperus esculentus*, *Sorghum halepense* in z drugimi. Nekateri herbicidi imajo v spektru delovanja pomanjkljivosti in lahko značilno pospešijo zapleveljenost z nekaterimi pleveli.

173

Iz omenjenih razlogov in iz razloga preverjanja pojava odpornosti plevelov na posamezne pripravke je potrebno nenehno izvajati praktične poskuse. To ugotovljajo tudi v tujini (Lako, 2012). Pri oceni uporabnosti posameznih herbicidov je poleg neposredne biotične učinkovitosti za posamezne skupine plevelov potrebno presoditi splošno učinkovitost v različnih bolj ali manj optimalnih pridelovalnih razmerah in tudi povezave s tehniko aplikacije (Lešnik *et al.*, 2005; 2012). V tem prispevku so predstavljeni rezultati enega od takšnih poljskih poskusov.

2 METODE DELA

2.1 Zasnova poskusa

Poskus je bil zasnovan v faktorski bločni zasnovi s 14 obravnavanji in štirimi ponovitvami na poljedelskih površinah UKC Pohorski dvor v Hočah pri Mariboru. Velikost posamezne parcelice je znašala 25 m² (6,25 m x 4 m). Sorta koruze »Panda« je bila posejana 20.04. 2012 v kombinaciji vrtavkasta brana + pnevmatska sejalnica na globino 6 cm in gostoto 90000 semen ha⁻¹. Škropljenja s herbicidi in herbicidnimi kombinacijami so se izvajala s profesionalno nahrbtno škropilnico na stisnjen zrak namenjeno mikropokusom znamke Gloria BASF. Poraba vode je znašala 350 l ha⁻¹. Na poskusnem polju se je izvajal nanos herbicidov v štirih terminih, in sicer v tako imenovanem »pre-em obdobju« po setvi in pred vznikom koruze (25.04.), »zelo zgodnjem post obdobju«, ko je imela koruza 2-3 liste (09.05.), »zgodnjem post obdobju«, ko je imela koruza 4-5 listov (24.05.) in v »poznejem post obdobju« v razvojni fazi koruze od 6-7 listov (28.05.). Pri določitvi termina škropljenja smo upoštevali strokovna priporočila glede optimalnih razvojnih faz plevelov ob nanosu in specifične zahteve posameznega herbicida ali herbicidne kombinacije.

Preglednica 1: Uporabljeni herbicidi in herbicidne kombinacije v poskusu

Št. obr.	Prepravek	Aktivne snovi	Form.	Odmerki	Termin škrop.
1.	ARRAT	dikamba 500g/kg tritosulfuron 250 g/kg	WG	0,2 kg/ha	C
2.	DUAL GOLD 960 EC BANVEL 480 S	S-metolaklor 960 g/l dikamba 480 g/l	EC SL	1,3 l/ha 0,7 l/ha	A D
3.	FRONTIER X2 BASAGRAN 480	dimetenamid-P 720 g/l bentazon 480 g/l	EC SL	1,2 l/ha 2,0 l/ha	A D
4.	PRIMEXTRA TZ GOLD 500 SC	S-metolaklor 312,5 g/l terbutilazin 187,5 g/l	SC	4,5 l/ha	A
5.	CAMIX	mezotrion 40 g/l S-metolaklor 400 g/l	SE	3,75 l/ha	A
6.	MAISTER OD	foramsulfuron 30 g/l jodosulfuron-metil natrij 10 g/l	OD	1,5 l/ha	C
7.	FRONTIER X2 HERBOCID	dimetenamid-P 720 g/l 2,4-D DMA 559 g/l	EC	1,2 l/ha 1,5 l/ha	A C
8.	KELVIN	nikosulfuron 40 g/l	SC	1,0 l/ha	C
9.	LAUDIS	tembotrion 44g/l	OD	2,25l/ha	D
10.	MERLIN FLEX	izoksafutol 240 g/l	WG	0,4 l/ha	B
11.	TAROT 25 WG	rimsulfuron 250 g/kg	WG	60 g/ha	C
12.	DUAL GOLD 960 EC MUSTANG 306 SE	S-metolaklor 960 g/l 2,4-D 2-EHE 452,42 g/l + florasulam 62,5 g/l	EC SE	1,3 l/ha 0,6 l/ha	A D
13.	DUAL GOLD 960 EC PEAK 75 WG	S-metolaklor 960 g/l prosulfuron 750 g/l	EC WG	1,3 l/ha 30 g/ha	A D
14.	STOMP AQUA	pendimetalin 455 g/l	CS	3,3 l/ha	A

174

2.1 Tehnika ocenjevanja učinkovitosti delovanja herbicidov

Štiri tedne po zadnjem nanosu herbicidov smo opravili vizualno ocenjevanje biotične učinkovitosti delovanja herbicidov in herbicidnih kombinacij po odstotni metodi. Pred ocenjevanjem smo popisali sestavo plevelne združbe na kontrolnih parcelah in jih vnesli na tabelarni seznam vrst (preglednica 2). Za vsak plevel s seznama smo na vsakem obravnavanju vizualno ocenili odstotno učinkovitost po EWRS sistemu kombiniranega vizualnega ocenjevanja od 0 do 100 %, glede na stopnjo poškodb pri plevelih (Püntener, 1981). To je kombinirana metoda, ki upošteva velikost plevela, barvo, nekroze, poškodbe listov in listne povrhnjice, ponovno regeneracijo in druge pokazatelje stanja plevelne rastline. Ocenili smo tudi stopnjo pokrovnosti posameznih plevelnih vrst, delež posamezne plevelne vrste v celotni plevelni gmoti in morebitno fitotoksičnost herbicida.

2.3 Vremenske razmere med izvajanjem poskusa

Marec je presenetil z nenavadno sončnim in toplim vremenom ter izjemnim pomanjkanjem padavin. V severovzhodnem delu Slovenije ni bila dosežena 10% množina padavin od dolgoletnega povprečja. April 2012 je bil toplejši kot v dolgoletnem povprečju v večjem delu države je bilo vsaj 1,5 °C topleje kot običajno. Sončno obsevanje je večinoma preseгло običajne vrednosti. Dolgoletno povprečje padavin je bilo najbolj preseženo na severozahodu. Prva tretjina maja je bila nadpovprečno topla, v drugi tretjini maja smo imeli ohladitev, zadnja tretjina je bila toplejša kot navadno. Padavine so bile pogoste in večina države je bila bolj namočena kot običajno. Imeli smo od 10 % do 20 % več sončnega vremena kot navadno. V juniju je bila temperatura zraka krepko nad dolgoletnim povprečjem in sicer druga najvišja takoj za letom 2003. V drugi polovici meseca smo imeli dva vročinska vala. Večina padavin

je bila zbrana v prvi polovici junija in je znašala pod dolgoletnim povprečjem. Sonca je bilo na območju Maribora za 30 % več, kot je dolgoletno povprečje. Julij se je začel z izrazito vročim vremenom. Povprečna temperatura zraka je bila nad običajnimi vrednostmi, količina padavin pa pod običajnimi vrednostmi. Avgusta nas je zajel vročinski val. Ob nadpovprečno vročem vremenu in visoki temperaturi zraka se je pomanjkanje padavin odražalo v hudi suši. Septembra so prevladovali toplejši dnevi od dolgoletnega povprečja, ki jih je prekinilo nekaj hladnejših obdobij, večinoma v osrednjem delu meseca. Oktobar 2012 je bil toplejši od dolgoletnega povprečja, padavin in sonca je bilo več kot navadno.

3 REZULTATI

Pri vrednotenju rezultatov smo najprej ocenili sestavo plevelne flore v kontrolnih (neškropljenih) parcelicah. Določili smo delež posameznega plevela v celotni gmoti v % in povprečno število plevelov posamezne vrste/m². Kot je razvidno iz preglednice 2 je bila najbolj zastopana v kontrolni parcelici bela metlika (24 %), sledil je divji sirek (16 %) in baržunasti oslez (13 %) ter navadna kostreba (12 %). Glede povprečnega števila plevelov posamezne vrste/m² sta bila najgostejša sestoja drobnocvetnega rogovilčka in bele metlike (30-45), sledila je navadna kostreba (30-40), baržunasti oslez (25-35) in divji sirek (23-30).

Preglednica 2: Sestava plevelne flore v kontrolnih parcelicah v %

	Delež posameznega plevela v celotni gmoti vseh plevelov:	Povprečno število plevelov posamezne vrste na m ² :
SORHA	16	23-30
AMARE	6	15-20
AMAHY	5	20-30
GALPA	3	30-45
CHEAL	24	30-45
CEHPO	3	5-10
CONAR	3	1-3
EQUAR	4	2-5
POLPE	6	10-15
ECHCG	12	30-40
BIDTR	3	4-8
ABUTH	13	25-35
STEME	2	5-15
SKUPAJ	100	290 - 340 m ²

175

Kot je iz preglednice 3 razvidno, je bila dosežena najvišja stopnja učinkovitosti v obravnavanjih V4 (Primextra TZ Gold 500 SC - 88 %), V13 (Dual gold 960 EC + Peak 75 WG - 88 %), V2 (Dual gold 960 EC + Banvel 480 S - 85 %), V6 (Maister OD - 85 %) in V9 (Laudis - 84 %). Rezultati nas sicer na prvi pogled nekoliko presenečajo, vendar če upoštevamo sestavo plevelne populacije in ugodne vremenske razmere za delovanje talnih herbicidov v »pre-em obdobju« po setvi in pred vznikom koruze (25.04.) ter manj ugodne vremenske razmere v poznejših terminih zatiranja (visoke temperature) potem z lahkoto pojasnimo dobljene rezultate. Iz preglednice so razvidne tudi pomanjkljivosti delovanja herbicidnih kombinacij na posamezne plevele. Tako pri obravnavanju V1 (Arrat) opazimo slabo delovanje na SORHA, EQUAR, ECHCG, STAPA in CONAR. V obravnavanju V2 (Dual gold 960 EC + Banvel 480 SC) herbicida ne delujeta na SORHA, STAPA, EQUAR in ABUTH. Druga najslabša skupna učinkovitost (57 %) je bila dosežena v obravnavanju V3 (Frontier X2 + Basagran 480). Ta kombinacija ne deluje na ABUTH, AMBAR, EQUAR, SORHA, STAPA in CONAR, nezadostno pa deluje na CHEAL in ECHCG. V obravnavanju V4 (Primextra TZ gold 500 SC) kjer je bila dosežena najvišja skupna učinkovitost smo

ugotovili, da herbicid ne deluje na BIDTR, STAPA, SORHA, EQUAR in CONAR. Prav tako na omenjene plevelce ne deluje novi herbicid Camix (V5). Herbicid Maister OD (V6) ne deluje na EQUAR in CONAR, zaznано je bilo tudi slabo delovanje na SORHA in ECHCG, kar bi lahko bila posledica vremenskih razmer. Podobno v cenovno zelo ugodnem (38 € ha⁻¹) obravnavanju V7 (Frontier X2 + Herbocid) ni bilo delovanja na STAPA, SORHA in EQUAR, ter nezadostno delovanje na POLPE. Pri obravnavanju V8 (Kelvin) je bilo za pričakovati, da ne bo deloval na AMBAR, EQUAR, CONAR in GASPA. Laudis (V9) ne deluje na EQUAR in CONAR, presenetilo pa nas je slabo delovanje na ECHCG, kar bi lahko bila posledica neugodnih vremenskih razmer ali pa učinek »dežnika« v sestoji plevelne populacije ali pa naknadni vznik navadne kostrebe. Najmanjši stroški zatiranja plevelov (34 € ha⁻¹) so bili doseženi v obravnavanju V10 (Merlin flex), ki pa ni deloval na EQUAR, CONAR in STAPA. Starejši herbicid iz skupine sulfonil sečnin Tarot (V11) ni deloval na AMBAR, EQUAR in STAPA. V obravnavanju V12 (Dual gold 960 EC + Mustang 306 SE) smo opazili slabo delovanje na ABUTH, na EQUAR in STAPA pa herbicidna kombinacija ni delovala. Kombinacija Dual gold 960 EC + Peak 75 WG (V13) je izpustila EQUAR in SORHA. Najslabšo povprečno učinkovitost (50 %) smo dosegli v obravnavanju V14 (Stomp aqua). To obravnavanje se je tudi statistično značilno razlikovalo od nekaterih drugih, kar je vidno tudi v preglednici 3. Herbicid ni deloval na AMBAR, EQUAR, CONAR, GASPA, BIDTR in STAPA.

Preglednica 3: Učinkovitosti delovanja na plevelce, povprečne pokrovnosti in povprečne učinkovitosti v posameznih obravnavanjih v %

Plevel/var	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ABUTH	90	31	0	47	60	67	80	63	70	100	70	31	57	83
AMARE	100	100	87	100	100	90	75	73	100	92	97	93	97	73
AMBAR	100	100	0	67	52	92	97	0	100	75	0	90	90	0
CHEAL	100	93	40	97	67	70	100	67	100	100	63	100	97	100
CONAR	37	82	7	7	0	33	60	0	23	3	48	90	83	0
ECHCG	3	58	40	95	95	53	57	83	37	73	93	67	70	37
EQUAR	0	7	0	10	0	20	17	0	10	0	3	7	17	0
GASPA	100	100	100	100	97	100	100	3	100	100	95	100	100	0
POLPE	100	100	100	100	100	87	40	100	100	100	67	100	93	100
SORHA	0	0	3	7	0	47	27	80	67	67	98	57	3	57
STAPA	13	3	0	0	7	57	20	100	100	0	17	0	100	7
BIDTR	100	100	100	0	0	100	100	100	100	100	57	60	60	0
Pokrov.	33	11	25	8	15	22	10	32	10	12	10	15	9	24
Učinko.	73	85	57	88	77	85	83	60	84	78	78	80	88	50
Stat. znač.	ab	a	ab	a	ab	a	a	ab	a	ab	ab	ab	a	b
Stroški € ha ⁻¹	20	61	84	63	71	67	38	43	71	34	52	47	54	46

176

4 SKLEPI

- Najvišje stopnje učinkovitosti so bile dosežene v obravnavanjih V4 (Primextra TZ gold 500 SC - 88 %), V13 (Dual gold 960 EC + Peak 75 WG - 88 %), V2 (Dual gold 960 EC + Banvel 480 S - 85 %), V6 (Maister OD - 85 %) in V9 (Laudis - 84 %).
- Statistično značilno se je po povprečni učinkovitosti od nekaterih obravnavanj razlikovalo obravnavanje V14, kjer je bila dosežena najnižja povprečna učinkovitost (50%).
- Povprečne pokrovnosti v škropljenih obravnavanjih so bile v razponu od 8 % (V4) do 33 % (V1).
- Večina herbicidov in herbicidnih kombinacij ne deluje ali pa slabo deluje na CONAR, EQUAR, SORHA in STAPA.

- V primeru, da nimamo velike semenske banke plevelov v tleh in semen trajnih plevelov lahko ob ugodnih vremenskih razmerah (zadostna vlažnost tal) uporabimo talne herbicide, ki so nekoliko cenejši, vendar prav tako zelo dobro učinkujejo.
- V obdobju, ko dosega koruza na trgu relativno visoko ceno je smiselno uporabiti najboljše herbicide in herbicidne kombinacije ki so tudi nekoliko dražji, saj povišani strošek za 20-30 € ha⁻¹ (ekvivalent 150 kg – 200 kg suhe koruze ha⁻¹) pri celotni vrednosti proizvodnje ne vpliva bistveno na stroškovno stran proizvodnje, nam pa zagotovi zanesljiv pridelek in ugodnejši finančni rezultat.

5 LITERATURA

- http://www.lako.at/de/versuche/inc/modules/lako_versuche/pdf/pflanzenbau/pflanzenschutz/herbizide/herbizide_mais_pyhra_2012.pdf
- Lešnik M., Vajs S., Leskošek G., Simončič A. 2005. The impact of nozzle types (standard vs.drift-reducing) on biotical efficacy of herbicides applied for control of weeds in maize // Proceedings of 7th Slovenian Plant Protection Conference. Zreče, Slovenia, p. 80–90
- Lešnik, M., Kramberger, B., Vajs, S. 2012. The effects of drift-reducing nozzles on herbicide efficacy and maize (*Zea mays* L.) yield. *Žemdirbysté-Agriculture*, vol. 99, No. 4 (2012), p. 371–378.
- Puntener, W. 1981. Manual for field trials in plant protection. Second edition, Ciba Geigy Basle, p. 145–182.
- Vajs, S. 2008. A survey of economic feasibility models for maize (*Zea mays* L.) weed control and their applicability for Slovenian production conditions. M. Sc. Thesis. 147 p.

POTENCIAL RAZLIČNIH STRNIŠČNIH DOSEVKOV ZA ZATIRANJE PLEVELA

Robert LESKOVŠEK¹, Andrej SIMONČIČ²

^{1,2} Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za kmetijsko ekologijo in naravne vire, Ljubljana

IZVLEČEK

Strniščni dosevki predstavljajo tehnološki ukrep v integrirani pridelavi poljščin v smislu ohranjanja rodovitnosti, preprečevanja erozije in varovanja podzemnih voda pred izpiranjem hranil. Poleg pozitivnih okoljskih učinkov pa je manj znano, da setev dosevkov predstavlja tudi del integrirane tehnologije za uravnavanje plevelov. S svojo hitro rastjo in pokrovnostjo dosevki preprečujejo razvoj plevelov in tekmovanje za hranila, svetlobo in vodo. Med leti 2010 in 2012 smo na njivah Kmetijskega inštituta v Jabljah posejali strniščne dosevke: ajdo, sončnice, oves, mnogocvetno ljuljko, abesinsko gizatijo, navadni riček, oljno redkev, krmno ogrščico, inkarnatko in facelijo. Spomladi smo rastlinske ostanke zadelali v tla z oranjem in posejali jaro pšenico, jari ječmen in koruzo. V rastni sezoni smo opravili več vzorčenj pokrovnosti plevelov in njihove biomase. V jesenskem terminu vzorčenja so vsi dosevki močno zmanjšali zapleveljenost v primerjavi z neposejano kontrolo. Podobno je bila tudi spomladi pred zadelavo rastlinskih ostankov pokrovnost tal s pleveli statistično značilno nižja pri vseh dosevkih razen inkarnatki in sončnicah. Kasneje v rastni sezoni nismo ugotovili učinka dosevkov na zapleveljenost glavnih dosevkov, saj sta bila tako biomasa kot pokrovnost tal s pleveli podobna. V letu 2012 smo najvišje pridelke ugotovili pri gizatiji, oljni redkvi in sončnicah z 28.7, 31.8 in 36.5 t sveže mase ter 4.3, 4.8 in 5.5 t suhe mase na hektar. Na podlagi naših rezultatov smo ugotovili, da dosevki pozitivno vplivajo na zmanjšanje zapleveljenosti predvsem v jesenskem in spomladanskem času pred obdelavo tal, medtem ko bodo za ugotavljanje njihovega dolgoročnega učinka na zmanjšanje zapleveljenosti v gojenih rastlinah potrebne nadaljnje raziskave.

Ključne besede: integrirana pridelava, pleveli, zatiranje, dosevki

ABSTRACT

POTENTIAL OF VARIOUS COVER CROPS FOR WEED SUPPRESSION

Beside beneficial environmental effect in aspect of nutrients, soil and water preservation, cover crops can serve as a potential tool in the integrated weed and pest management systems. With their fast, vigorous growth and establishment, cover crops impose strong competition to weed species for nutrients, water and light. From 2010-2012 buckwheat, sunflower, oats, ryegrass, niger seed, camelina, radish, rape, crimson clover and lacy phacelia were planted in the wheat stubbles as cover crops in the experiment conducted at Agricultural Institute of Slovenia. Plant residues were incorporated in the spring of the following year, after which spring wheat, spring barley and maize were planted as main crops. In the growing season several assessments of weed species coverage and biomass were performed. Cover crops significantly reduced weed coverage in the fall sampling period. Similarly, in the spring of 2011 and 2012, before incorporation of cover crops residues, weed coverage in all experimental plots was significantly reduced compared to control treatment with exception of sunflower and crimson clover. However, later in the season, no effect of cover crops on weed infestation in main crops spring wheat, spring

¹ dr., univ. dipl. inž. agr., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

² dr., prav tam

barley and maize was determined as suppressive effect diminished and weed coverage and biomass were similar in all experimental plots. In the 2012 the greatest yields were determined in nigerseed, radish and sunflower with 28.7, 31.8 and 36.5 t of fresh biomass and 4.3, 4.8 and 5.5 t of dry matter per hectare respectively. Based on our results, cover crops strongly reduce weed infestation in the growing season and the following spring, while further research will be needed to investigate its long term effect on weed infestation.

Key words: integrated weed management, cover crops, weed suppression

1 UVOD

Sodobni kmetijski pridelovalni sistemi temeljijo na načelih integriranega varstva pred škodljivimi organizmi (IPM) in vključevanju različnih strategij pri obvladovanju plevelov, bolezni in škodljivcev. Cilj takšnega pristopa je zagotavljanje dolgoročnega zmanjšanja pritiska škodljivih organizmov ter hkrati trajnostne in ekonomično pridelane hrane z manjšim vplivom na okolje. V IPM strategiji predstavljajo strniščni ali vmesni dosevki, ki jih posejemo v obdobju gojenja med dvema glavnima posevkoma, potencialno dodatno orodje za sistemsko naravnano integrirano zatiranje plevelov (IWM). Strniščne dosevke smo v preteklosti vključevali v kolobarne sisteme predvsem zaradi pozitivnih učinkov na imobilizacijo in preprečevanje izpiranja dušika izven rastne dobe, izboljšanja strukture tal, obogatitve tal z dušikom (metuljnice) in nevtralizacijo ali preprečevanje razvoja bolezni kot so nematode (Sarrantonio in Gallandt, 2003). Vključitev dosevkov ponuja dva mehanizma s katerima omejujemo populacije plevelov. Pozno poleti ali v jesenskem obdobju dosevki s svojim tekmovalnjem za svetlobo, hranila in vodo preprečujejo rast, razvoj in tvorbo semena različnih plevelnih vrst in zapolnijo nišo, ki bi jo v nasprotnem v poljskih ekosistemih zapolnili pleveli (Liebman in Staver, 2001). Rastlinski ostanki, ki jih zadelamo v tla spomladi, pa zmanjšujejo ali preprečujejo vznik plevelov zaradi svojega alelopatskega vpliva (Al Khatib, 1997) ali stimuliranja talnih patogenov (Conklin *et al.*, 2002).

Število vzniklih plevelnih vrst določa raven tekmovalja za vire z gojeno rastlino in je poleg klimatskih razmer v veliki meri odvisno predvsem od talne semenske banke plevelov. Tekmovalnost plevelov in kasnejša izguba pridelka posledično vplivajo na potrebo po zatiranju plevelov s herbicidi ali mehanskimi postopki s ciljem, da bi se njihova tekmovalnost zmanjšala (Dielman *et al.*, 1996). Prav tako stopnja začetnega vznika plevelov vpliva na uspešnost postopkov kot so okopavanje ali uporaba herbicidov po vzniku (Forcella *et al.*, 1993).

Učinek dosevkov na razvoj plevelne populacije je lahko kratkoročen kot zmanjšan pritisk plevelov v isti sezoni. Med dolgoročne učinke pa uvrščamo predvsem zmanjševanje talne semenske banke, saj je razvoj plevelov povezan s kasnejšo produkcijo semena (Lutman, 2002) le-teh. Namen naše raziskave je bil ugotoviti potencialni vpliv dosevkov na plevelno populacijo, preučiti dinamiko razvoja plevelov ter na podlagi rezultatov določiti mehanizme s katerimi imajo dosevki učinek na razvoj plevelov.

2 MATERIAL IN METODE

V preorano strnišče je bilo v letih 2010-2012 posejano 10 vrst strniščnih dosevkov. Spomladi naslednjega leta so bili ostanki dosevkov zadelani v tla z oranjem. Glavne parcele so bile razdeljene na 4 podparcele in spomladi so bili posejani jara pšenica (24. 3. 2011), jara ječmen (11. 3. 2011) in koruza v 2 rokih (zgodnji rok 3. 4. in pozni rok 16. 4. 2011).

V rastni dobi smo opravili več vizualnih ocenjevanj in vzorčenja plevelne biomase. V terminu 3 tednov po setvi smo ocenili hitrost vznika in razvoj pokrovnosti, slednjo smo ocenili še v pozno jesenskem obdobju. Vzorčili smo: plevelne vrste, število plevelov po vrstah,

pokrovnost plevelov (%), plevelno biomaso (suho snov), ki smo jo določili pri zadnjem vzorčenju.

Shema poskusa

Osnovna parcelica: 8 m x 17 m (136 m²)

Razdalja med bloki: 6 m

Dolžina poskusa: 11 x 8 m (88 m)

Širina poskusa: 4 x 17 m + 3 x 6 m (86 m)

Obravnavanja: naključna porazdelitev v blok sistemu

1. Kontrola (untreated control)
2. Navadna ajda (*Fagopyrum esculentum* Moench) (Čebelica)
3. Navadna Sončnica (*Helianthus annuus* L.) (PR64H45), 65.000 zrn/ha
4. Oves (*Avena sativa* L.) (Noni)
5. Mnogocvetna ljujka (*Lolium multiflorum* Lam.) (KPC Laška)
6. Abesinska gizotija (*Guizotia abyssinica* L.) (Mungo), 10 kg/ha
7. Navadni riček (*Camelina sativa* L. Crantz) (12 kg/ha)
8. Oljna redkev (*Raphanus sativus* L. var. *oleiformis* Pers.) (Rauola), 30 kg/ha
9. Krmna ogrščica (*Brassica napus* L. var. *napus* f. *biennis*) (Starška)
10. Inkarnatka (*Trifolium incarnatum* L.) (Inkara)
11. Facelija (*Phacelia tanacetifolia* Benth.) (Balo), 15 kg/ha

7	2	3	5
1	10	11	9
8	3	6	2
5	4	1	8
2	8	10	7
9	6	7	4
11	5	2	6
3	1	4	11
10	9	8	3
6	7	5	1
4	11	9	10

180

Preglednica 1: Lestvica indeksov začetne rasti in pokrovnosti dosevkov ter indeksov pozno-jesenskega razvoja dosevkov

% pokrovnosti	Index začetne rasti in pokrovnosti
0-10 %	1
10-20 %	2
20-30 %	3
30-40 %	4
40-50 %	5
50-60 %	6
60-70 %	7
70-80 %	8
80-90 %	9
90-100 %	10

% preživelih rastlin ob prvem mrazu	Index pozno-jesenskega razvoja
0-10 %	1
10-20 %	2
20-30 %	3
30-40 %	4
40-50 %	5
50-60 %	6
60-70 %	7
70-80 %	8
80-90 %	9
90-100 %	10

V letu 2012 smo dosevkom določili indeks začetne rasti in poznojesenskega razvoja po lestvici (1-10), pri čemer smo dosevke ocenili glede na hitrost vznika in pokrovnosti tal. Podobno smo ocenili njihov razvoj oziroma občutljivost pri nižjih jesenskih temperaturah dne 16.11. 2012 po lestvici (1-10) (preglednica 1).

3 REZULTATI

3.1 Razvoj in pokrovnost dosevkov

Rezultati vzorčenja 3 tedne po vzniku so pokazali, da sta bila hiter vznik in pokrovnost značilna pri ajdi, abesinski gizotiji in faceliji, medtem ko mnogocvetna ljujka in inkarnatka znatno zaostajata pri razvoju in pokrovnosti tal (preglednica 2). Nasprotno sta se v poznojesenskem obdobju najbolj razvijala mnogocvetna ljujka in inkarnatka. Kot najbolj občutljive na nizke temperature so se izkazale ajda, sončnica in abesinska gizotija, ki ob prvi slani prenehanju z razvojem (preglednica 2).

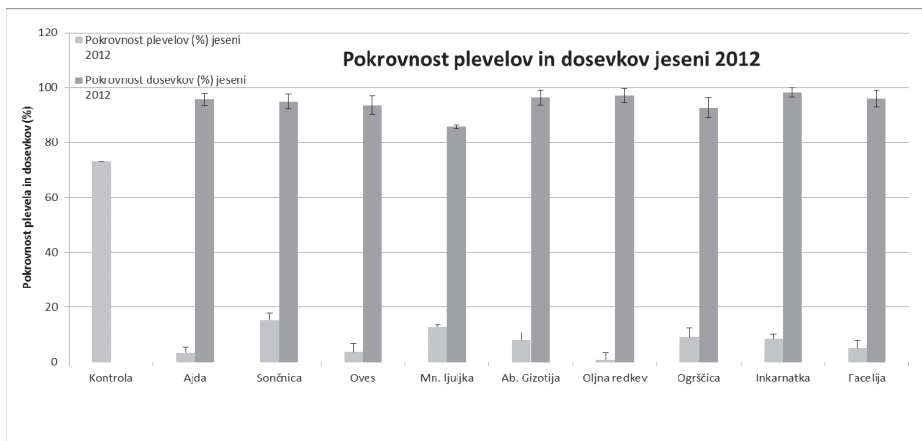
Preglednica 2: Prikaz indeksov začetne rasti in pokrovnosti dosevkov ter indeksov razvoja v pozno-jesenskem terminu vzorčenja (16.11. 2012)

Št. obravnavanja	Dosevek	Indeks začetne rasti in pokrovnosti	Indeks pozno-jesenskega razvoja
1	kontrola	7	9
2	ajda	10	1
3	sončnice	4	1
4	oves	8	2
5	mnogocvetna ljujka	2	9
6	abesinska gizotija	9	1
7	navadni riček	5	2
8	oljna redkev	8	8
9	ogrščica	5	8
10	inkarnatka	3	9
11	facelija	10	9

3.2 Pokrovnost plevelov

Na vsaki parcelici smo opravili 2 vizualni oceni pokrovnosti plevelov in dosevkov v letu 2012. Rezultati analize variance so pokazali, da obstajajo statistično značilne razlike med dosevki tako pri pokrovnosti plevelov, kakor tudi po pokrovnosti dosevkov v jesenskem obdobju razvoja ($P \leq 0.001$). Največjo pokrovnost smo ugotovili pri oljni redkvi in gizotiji, najmanjšo pa pri mnogocvetni ljujki in ogrščici. Največja zapleveljenost je bila ugotovljena pri sončnici in mnogocvetni ljujki, najmanjša pa pri oljni redkvi, ovsu in ajdi.

Tudi Kruidhof *et al.* (2008) poroča predvsem o jesenskem vplivu dosevkov na plevele, ki je povezan s tekmovanjem za razpoložljivo svetlobo. Lawley *et al.* (2012) pa so ugotovili, da je mehanizem jesenske tekmovalnosti velike bele redkve (*Raphanus sativus* L. var. *longipinatus*) dominantno vplival na zgodnjo spomladansko inhibicijo vznika in razvoja plevelov pri čemer različni lončni poskusi niso zaznali alelopatskega učinka na plevele.

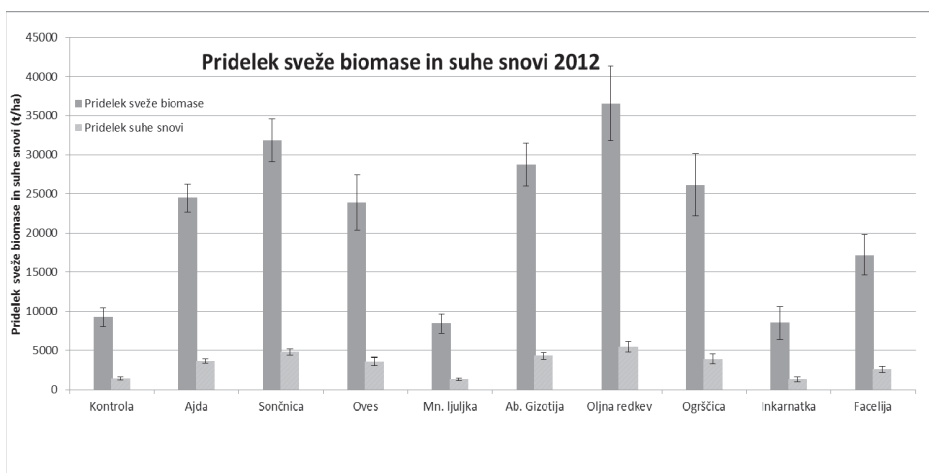


Slika 1: Pokrovnost plevelov in dosevkov v jeseni 2012. Prikazane so povprečne vrednosti in standardne napake \pm SE

3.3 Pridelek sveže biomase in suhe snovi

Podobno kot pri pokrovnosti plevelov smo tudi pri pridelku sveže biomase in suhe snovi ugotovili statistično značilne razlike med dosevki ($P \leq 0.001$). Največji pridelek nadzemne sveže mase pozno jeseni (16. 10. 2012) je bil izmerjen pri oljni redkvi (36,5 t/ha), nekoliko manjši pridelek smo ugotovili pri sončnicah (31,8 t/ha) in abesinski gizotiji (28,7 t/ha). Statistično značilno nižji pridelek smo ugotovili pri mnogocvetni ljuljki in inkarnatki, kjer je povprečni pridelek sveže mase znašal 8,5 t/ha. Preračunano v suho snov, smo izmerili pridelek 5,5 t SS/ha pri oljni redkvi, 4,8 t SS/ha pri sončnicah, 4,3 t SS/ha pri abesinski gizotiji, ter 1,3 t SS/ha pri mnogocvetni ljuljki in inkarnatki. Tudi na kontrolnih parcelicah smo izmerili povprečno kar 9,3 t/ha plevelne biomase, kar znesse 1,4 t SS/ha (slika 2).

182



Slika 2: Pridelek sveže biomase in suhe snovi dosevkov v letu 2012. Prikazane so povprečne vrednosti in standardne napake \pm SE

4 SKLEPI

Rezultati naše raziskave so pokazali, da strniščni dosevki vplivajo na zmanjšanje števila, pokrovnosti in biomase plevelov pri čemer je:

- vpliv najmočnejši v letu setve, ko dosevki s svojo tekmovalnostjo in zasedbo rastnega prostora predvsem zmanjšajo število, pokrovnost in biomaso plevelov do konca rastne dobe v jeseni,
- učinek zaznaven tudi zgodaj spomladi, vendar se močno zmanjša v primerjavi z jesenskim obdobjem,
- največji skupni učinek (jeseni, spomladi ter v gojeni poljščini) na zmanjšano populacijo, pokrovnost in biomaso plevelov izmerjen pri ovsu in oljni redkvi, najmanjši pa pri sončnicah,
- mehanizem delovanja temelji predvsem na učinku tekmovalnosti, saj alelopatskega vpliva na poljski ravni nismo ugotovili.

5 ZAHVALA

Raziskava je bila financirana v okviru CRP projekta (V4-1130; Preučevanje okolju prijaznih tehnologij pridelovanja koruze in zatiranja plevela) za kar se zahvaljujemo Javni agenciji za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije. Prav tako velja zahvala vsem sodelavcem in tehničnemu osebju Kmetijskega inštituta Slovenije za pomoč pri izvedbi poskusov.

6 LITERATURA

- Al Khatib K. 1997. Weed suppression with Brassica green manure crops in green pea. *Weed Science*, 45: 439–445.
- Conklin A.E., Erich M.S., Liebman M *et al.* 2002. Effects of red clover (*Trifolium pratense*) green manure and compost soil amendments on wild mustard (*Brassica kaber*) growth and incidence of disease. *Plant and Soil*, 238: 245–256.
- Dielman, A., Hamill A. S., Fox G. C., Swanton C. J. 1996. Decision rules for postemergence control of pigweed (*Amaranthus* spp.) in soybean (*Glycine max*). *Weed Science*, 44:126-132.
- Forcella F., Eradt-Oskoui K., Wagner S.W. 1993. Application of weed seedbank ecology to low-input crop management. *Ecological Applications*, 3: 74-83.
- Froud-Williams, R. J., Chancellor R. J., Drenan D.S.H. 1984. The effects of seed burial and soil disturbance on emergence and survival of arable summer annual weeds in relation to minimal cultivation. *Journal of Applied Ecology*, 21:629-641.
- Kruidhof, H.M., Bastiaans L., Kropff M.J. 2008. Ecological weed management by cover cropping: Effects on weed growth in autumn and weed establishment in spring. *Weed Research*, 48: 492–502.
- Lutman P.J.W. 2002. Estimation of seed production by *Stellaria media*, *Sinapis arvensis* and *Tripleurospermum inodorum* in arable crops. *Weed Research*, 42: 359–369.
- Sarrantonio M., Gallandt E. 2003. The role of cover crops in North American cropping systems. *Journal of Crop Production*, 8: 53–74.
- Shilling, D. G., Worship A. D., Danehower D. A. 1986. Influence of mulch, tillage and diphenamid on weed control, yield, and quality in notill flue cured tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Weed Science*, 34:738-744.

MOŽNOSTI UPORABE MEHANSKEGA ZATIRANJA PLEVELA IN SISTEMA REDUCIRAJOČE OBDELAVE V PRIDELOVANJU KORUZE

Robert LESKOVŠEK¹, Andrej SIMONČIČ²

^{1,2} Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za kmetijsko ekologijo in naravne vire, Ljubljana

IZVLEČEK

Večina intenzivne kmetijske pridelave v Sloveniji poteka na ravninskih predelih z rodovitnimi aluvialnimi tlemi. Hkrati se skozi intenzivno obdelana plitka tla obrečnih nanosov napajajo tudi podzemni vodonosniki, ki predstavljajo glavni vir pitne vode pri nas. Ena izmed uveljavljenih tehnologij v svetu, ki je pokazala pozitivne okoljske učinke, je konzervirajoča obdelava tal, kjer je setev opravljena v rastlinske ostanke. Pri tem varujemo tla pred erozijo, in pred izpiranjem hranil in fitofarmaceutskih sredstev. V letu 2012 smo v poljskem poskusu na njivah Kmetijskega inštituta v Jabljah primerjali pridelavo koruze v konvencionalni in tračni (strip-till) obdelavi ter pri konvencionalnih in mehanskih postopkih zatiranja plevelov. V konvencionalni pridelavi smo uporabili standardno obdelavo s plugom, predsetveno pripravo tal in herbicid po vzniku, za razliko od njiv, kjer smo plevel zatirali le z mehansko obdelavo. Pri tračni pridelavi smo koruzo sejali v obdelane trakove na njivo, kjer smo v prejšnjem letu na strnišče posejali dosevke oljno redkev (*Raphanus sativus* L.), mnogocvetno ljujko (*Lolium multiflorum* Lam.) in inkarnatko (*Trifolium incarnatum* L.). Pred setvijo koruze smo razvoj dosevkov ustavili z neselektivnim herbicidom in jih zmulčili. Zatiranje plevela je bilo najbolj učinkovito v konvencionalnem sistemu, kjer smo na koncu rastne sezone ugotovili le 2,5 % pokrovnosti površine tal s pleveli. Mehanska in tračna pridelava sta bila z 11 % in 15 % statistično značilno nižja. Naši preliminarni rezultati so pokazali, da smo v vseh treh načinih pridelave dosegli podobne pridelke z 9.1, 8.9 in 7.7 t suhega zrnja na hektar pri konvencionalni, mehanski in tračni pridelavi. Kljub povečani zapleveljenosti pri tračni in mehanski pridelavi koruze, so se pridelki zmanjšali predvsem zaradi manjšega števila rastlin na hektar. Naši rezultati nakazujejo, da tako tračna obdelava kot tudi mehanski postopki zatiranja plevela predstavljajo dodatno možnost doseganja primerljivih pridelkov v pridelavi koruze.

Ključne besede: reducirajoča pridelava koruze, pleveli, zatiranje, dosevki

ABSTRACT

IMPLEMENTATION OF MECHANICAL WEED CONTROL AND REDUCED TILLAGE SYSTEM IN MAIZE PRODUCTION

Majority of the intensive agricultural production in Slovenia is concentrated on the fertile arable land in the lowlands. However, the source for most of the slovenian drinking water are groundwater aquifers recharged through intensively cultivated shallow alluvial soils. Conservation tillage management practices where main crops are planted in the plant residues exhibited positive environmental implications not just in protecting soils from erosion, but also from preventing of leaching agrochemicals into groundwater. In 2012 a field experiment in maize production was conducted in Slovenia, where conventional, mechanical

¹ dr., univ. dipl. inž. agr., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

² dr., prav tam

and strip till management systems were compared. In conventional plots standard technology with ploughing, seed bed preparation and post emergence herbicide was applied, whereas only physical weed control measures were tested in the mechanical weed control plots. In the strip till system maize was planted in the dead mulch of cover crops, radish (*Raphanus sativus* L.), crimson clover (*Trifolium incarnatum* L.) and ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) terminated in the spring with glyphosate. Weed control was the most effective in conventional system, where at the end of the growing season significantly lower weed coverage of 2.5 % compared to mechanical weed control methods (11 %) and strip till system (15 %) was determined. Our preliminary results indicate that similar dry maize grain yields of 9.1, 8.9 and 7.7 tons per hectare were obtained in conventional, mechanical and strip-till systems, respectively. Regardless of greater weed infestation in mechanical and strip till systems, yields were mainly decreased due to reduced maize plant stand. Based on our initial results, mechanical and strip-till maize production systems represent alternative technology with comparable maize yields.

Key words: reduced tillage, maize production, weed control, cover crops

1 UVOD

V Sloveniji je podtalnica glavni vir pitne vode in velik del najbolj rodovitnih tal v Sloveniji se nahaja na območjih, ki so za izpiranje hranil in fitofarmaceutskih sredstev najbolj ranljiva. To so pretežno plitva, obrečna tla z neugodno strukturo, saj so večinoma namenjena njivski pridelavi, kar dodatno predstavlja tveganje za onesnaženja podzemnih voda z nitrati (Sušin in sod., 2008) in fitofarmaceutskimi sredstvi iz kmetijstva (Štangelj, 2009).

Največjo nevarnost za izpiranje nitratov predstavljajo neporaščene njive (prazne zorane njive po žetvi), okopani vinogradi in sadovnjaki. Tudi sami rastlinski ostanki, ki jih jeseni podorjemo, v zimskem času mirovanja rastlin z razpadanjem sprostijo veliko organskega dušika, ki se z nitrifikacijo spremeni v nitrat in se tako izpira v podtalnico (Bugar, 1999). V preteklosti je bilo opravljenih precej raziskav na temo vključevanja dosevkov v pridelovalne sisteme, ki so potrdile prednosti vključitve le-teh v kolobar (Brandstaeter *et al.*, 1998). To so predvsem varstvo pred erozijo, zadrževanje vlage v tleh, izboljšanje strukture, povečevanje organske snovi, v primeru metuljnic vezave dušika in predvsem imobilizacija dušika ter preprečevanje njegovega izpiranja zunaj rastne dobe.

Poleg ugodnih okoljskih vplivov v zadnjem času dosevki postajajo del strategije pri integriranem zatiranju plevelov (IWM) (Swanton in Weise, 1991; Thill *et al.*, 1991), bodisi kot pokrovne rastline (mulč), ki preprečujejo vznik plevelov (Mohler, 1991; Moore *et al.*, 1994) ali pa kot dosevki, ki omogočajo alelopatske in nematodne vplive (Halbrendt, 1996).

Pri neposredni setvi v rastlinske ostanke se lahko pridelki koruze zmanjšajo zaradi razpada mrtve zastirke (široko C/N razmerje), počasnega ogrevanja tal, konkurenčnosti dosevka (počasen propad) in pa predvsem slabšega vznika tako zaradi hladnih tal kot tudi neenakomerne globine setve ter površinske zbitosti tal (Cigüt, 2009; Kaučič, 2009). Namen naše raziskave je bil preučiti možnosti uporabe sistema reducirajoče obdelave in direktne tračne setve koruze v rastlinske ostanke različnih dosevkov. Prav tako smo želeli ugotoviti kakšne so možnosti vključitve različnih postopkov mehanskega zatiranja plevelov v različne sisteme pridelovanja koruze in jih primerjati s konvencionalno pridelavo.

2 MATERIAL IN METODE

Poskus je bil opravljen na njivah Kmetijskega inštituta Slovenije v Jabljah pri Mengšu v letu 2012.

Osnovni podatki o poskusu:

Shema poskusa

Obravnavanja (Split-plot zasnova v blok sistemu)

Velikost poskusa : 100 m x 100 m
Glavna parcela: 25 m x 25 m
Podparcele: 8,3 m x 25 m (12 vrst koruze)

1. Glavne parcele z različnimi striščinimi dosevki:

- oljna redkev
- mnogocvetna ljuljka
- inkarnatka
- brez dosevka-poletna praha

2. Podparcele z različno tehnologijo pridelave koruze:

- Konvencionalna pridelava (KONV)
- Konzervirajoča pridelava s tračno obdelavo (EKOSEM)
- Mehansko zatiranje plevela (EKO)
- Konvencionalna pridelava z znižanim odmerkom herbicida (RED)

KONV 1 oranje	predsetvena	setev	herbicidi
EKO 1 oranje	predsetvena	setev	2 x česanje + okopavanje
EKOSEM 1 mulčenje	direktna setev	herbicid v vrsti	okopavanje
KONV 2 oranje	predsetvena	setev	herbicidi
EKO 2 oranje	predsetvena	setev	2 x česanje + okopavanje
EKOSEM 2 mulčenje	direktna setev	herbicid v vrsti	okopavanje
KONV 3 oranje	predsetvena	setev	herbicidi
EKO 3 oranje	predsetvena	setev	2 x česanje + okopavanje
EKOSEM 3 mulčenje	direktna setev	herbicid v vrsti	okopavanje
RED 1 oranje	predsetvena	setev	2 X česanje + 70 % herbicida
EKO 4 oranje	predsetvena	setev	2 x česanje + okopavanje
oljna redkev			
mn. ljuljka			
inkarnatka			
praha			

186

Preglednica 1: Tehnološki postopki pri posameznem sistemu pridelave koruze

Sistem pridelave	Uporabljeni tehnološki postopki
Konvencionalna (KONV)	oranje, predsetvena obdelava, setev, herbicid po vzniku (Lumax)
Konzervirajoča (EKOSEM)	neselektivni herbicid (uničenje dosevka), neposredna setev v pasove s strojem EKOSEM, herbicid v obdelane pasove po vzniku, okopavanje
Mehansko zatiranje plevela (EKO)	oranje, predsetvena obdelava, setev, 2x česanje in pa 2x okopavanje koruze
Konvencionalna z znižanim odmerkom herbicida (RED)	oranje, predsetvena obdelava, setev, 2x česanje in 70% odmerek herbicida po vzniku (Lumax)

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

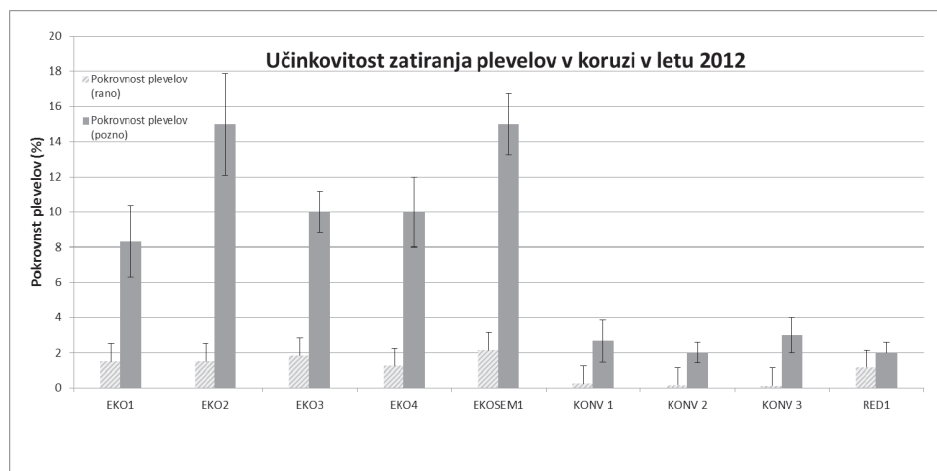
Rezultati analize variance spomladanske ocene zapleveljenosti so pokazali, da dosevki statistično značilno vplivajo na zapleveljenost v spomladanskem obdobju ($P \leq 0.001$). Pokrovnost in število plevelov v inkarnatki in mnogocvetni ljuljki je bila veliko nižja v primerjavi z neposejano površino pod praho (preglednica 1). Tudi pri oljni redkvi smo ugotovili nižjo pokrovnost površine s pleveli, vendar večje število plevelnih vrst v primerjavi z obravnavanji brez dosevkov. Z vključitvijo dosevkov pozno poleti ali v jesenskem obdobju preprečujemo rast, razvoj in tvorbo semena različnih plevelnih vrst, medtem ko spomladanska

zadelava rastlinskih ostankov v tla zmanjšuje ali preprečuje vznik plevelov. Število plevelov, ki vznikne zgodaj spomladi določa raven tekmovanja za vire z gojeno rastlino in posledično vpliva na potrebo po zatiranju plevelov s herbicidi ali mehanskimi postopki, da bi se ta tekmovalnost zmanjšala (Dielman *et al.*, 1996). Prav tako velikost stopnje začetnega vznika plevelov vpliva na uspešnost postopkov kot so okopavanja ali uporaba herbicidov po vzniku (Forcella *et al.*, 1993).

Preglednica 1: Vpliv dosevkov na pokrovnost in število plevelov spomladi

Št.	Dosevek	Pokrovnost plevelov (%)	Število plevelov
1	Mnogocvetna ljujčka	21,7 a *	44 a
2	Inkarnatka	51,7 b *	46 a
3	Oljna redkev	70 c	78 a
4	Brez dosevka (praha)	75 c	60 a

* Obravnavanja označena z različnimi črkami se statistično značilno razlikujejo (LSD test pri $P \leq 0.05$)



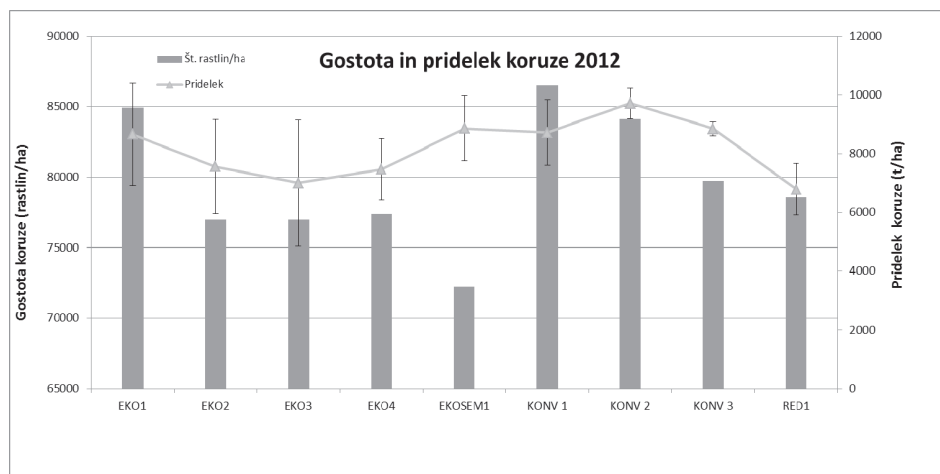
Slika1: Pokrovnost plevelov v različnih sistemih pridelovanja koruze poleti in v jeseni 2012. Prikazane so povprečne vrednosti in standardne napake \pm SE

Učinkovitost zatiranja plevelov se je statistično značilno razlikovala v različnih sistemih pridelovanja koruze ($P \leq 0.001$). V zgodnjem terminu ocenjevanja smo pri mehanskem zatiranju plevela ugotovili 1.5 %, tračni pridelavi 2.2 % in uporabi znižanih odmerkov herbicida 1,2 % pokrovnost s pleveli. V obravnavanjih s konvencionalno pridelavo je le-ta znašala le 0.18 %. Te razlike so se do jesenskega termina ocenjevanja še povečale na 11 in 15 % pri mehanskem zatiranju in tračni pridelavi ter 2 oziroma 2,5 % pri znižanem odmerku herbicida in konvencionalni pridelavi (slika 1). Do podobnih sklepov so prišli tudi Mohler in sod. (1997), saj so ugotovili manjše učinkovitosti mehanskih postopkov zatiranja plevelov v primerjavi z uporabo herbicidov v koruzi.

Sklop rastlin v obravnavanjih, kjer smo uporabljali mehanske postopke zatiranja plevelov je bil statistično značilno nižji v primerjavi s konvencionalno pridelavo ($P \leq 0.01$). Najvišji sklop smo ugotovili pri konvencionalni pridelavi (83.298 rastlin/ha), najnižjega pa pri tračni pridelavi (72.221 rastlin/ha). Nižji sklop je posledica uporabe mehanskih postopkov zatiranja plevela, predvsem prstnega okopalnika, ki smo ga uporabili v zgodnjih fazah razvoja koruze.

O vplivu mehanskega zatiranja plevelov na zmanjšanje sklopa koruze poročajo tudi druge raziskave, kjer so ugotovili od 7-21 % zmanjšanje gostote koruze (Mohler *et al.*, 1997; Mulder in Doll, 1993).

Pridelki koruze so bili zaradi suše v letu 2012 nizki in so si bili statistično podobni. Najvišje pridelke smo izmerili pri konvencionalni pridelavi (9,2 t/ha) in tračni pridelavi (8,9 t/ha), najnižji pa pri mehanskem zatiranju (7,7 t/ha) in zmanjšanem odmerku herbicida (6,8 t/ha) (slika 2). Nižji pridelki med obravnavami so bili predvsem posledica manjše gostote rastlin na teh parcelah. O podobnih pridelkih poročajo tudi (Mohler *et al.*, 1997; Mt. Pleasant *et al.*, 1994), kjer so primerjali mehansko, konvencionalno in pa tračno uporabo herbicidov v pridelavi koruze in tako zmanjšali vnos herbicidov in potrdili primernost takšnih tehnologij in zmanjšali odvisnost od uporabe herbicidov.



Slika 2: Gostota in pridelek koruze v različnih sistemih pridelovanja v letu 2012. Prikazane so povprečne vrednosti in standardne napake \pm SE

4 SKLEPI

Na podlagi preliminarnega enoletnega poskusa primerjave različnih sistemov tehnologij pridelave in zatiranja plevelov v koruzi lahko sklenemo, da je:

- visoke pridelke koruze moč doseči tudi s samo mehanskim zatiranjem plevela. Pri tem so potrebni redni pregledi posevka koruze in zgodnja uporaba česal, ki mu sledi vsaj enkratno okopavanje. Zmanjšan pridelek rastlin je posledica uporabe mehanskih postopkov zatiranja plevela, kjer moramo računati na zmanjšanje sklopa rastlin.
- pomembno vlogo v sistemu konzervirajoče pridelave koruze ima izbira ustreznega strnišnega dosevka. Z dosevkom želimo doseči veliko pokrovnost medvrstnega prostora, srednji pridelek biomase (prevelika biomasa povzroča mašenje stroja) in nekonkurenčnost s koruzo v začetni fazi rasti (neprezimni dosevki ali tisti prezimni dosevki, ki se jih da pred setvijo enostavno uničiti z neselektivnim herbicidom).

5 ZAHVALA

Raziskava je bila financirana v okviru CRP projekta (V4-1130; Preučevanje okolju prijaznih tehnologij pridelovanja koruze in zatiranja plevela) za kar se zahvaljujemo Javni agenciji za raziskovalno

dejavnost Republike Slovenije. Prav tako velja zahvala vsem sodelavcem in tehničnemu osebju Kmetijskega inštituta Slovenije za pomoč pri izvedbi poskusov.

6 LITERATURA

- Birkás M. 2008. Environmentally-sound adaptable tillage. Akadémiai Kiadó. Budapest: 351 str.
- Botteneberg H., Masiunas J., Eastman C., Eastburn D. 1997. Yield and quality constraints of cabbage planted in rye mulch. *Biological Agriculture and Horticulture*, 14: 323-342.
- Bugar S. 1999. Ogroženost in varovanje vodnih virov pred nitratnim oneskeževanje. Ogrožanje vodnih virov in naravne snovi v pitni vodi. Ljubljana, Zbornik predavanj: 125-152.
- Cigüt Š. 2009. Možnosti različnih alternativnih metod obdelovanja tal pri pridelovanju koruze (*Zea mays* L.) za zrnje. Dipl. delo, Maribor, Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede: 35-40.
- Galloway B.A. and L.A. Weston. 1996. Influence of cover crop and herbicide treatment on weed control and yield in no-till sweet corn (*Zea mays* L.) and pumpkin (*Cucurbita maxima* Duch.). *Weed Technology*, 10: 341–346.
- Halbrendt J.M. 1996. Allelopathy in the management of plant-parasitic nematodes. *Journal of Nematology*, 28: 8–14.
- Kaučič K. 2009. Vpliv sistema direktne setve koruze (*Zea mays* L.) na uspešnost zatiranja plevelov. Diplomsko delo, Maribor, Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede: 15-25.
- Knight S.M. 2004. Plough, minimal till or direct drill? Establishment method and production efficiency. V: (Ur. Anon.), HGCA Conference 2004: Managing Soil and Roots for Profitable Production. London, Home Grown Cereals Authority.
- Lahmar R. 2008. Adoption of conservation agriculture in Europe: lessons of the Kassa project. *Land Use Policy* 27, 4–10.
- Mohler C.L. 1991. Effect of tillage and mulch on weed biomass and sweet corn yield. *Weed Technology*, 5: 545- 552.
- Mohler C. L., Frisch, J. C., Mt. Pleasant J. 1997. Evaluation of mechanical weed management programs for corn (*Zea mays*). *Weed Technology*, 11: 123-131.
- Moore M. J., Gillespie T. J., Swanton C. J. 1994. Effect of cover crop mulches on weed emergence, weed biomass, and soybean (*Glycine max*) development. *Weed Technology*, 8: 512–518.
- Mt. Pleasant J., Burt R. F., Frisch, J. C. 1994. Integrating mechanical and chemical weed management in corn (*Zea mays*). *Weed Technology*, 8:217-223.
- Mulder T A and J. D. Doll. 1993. Integrating reduced herbicide use with mechanical weeding in corn (*Zea mays*). *Weed Technology*, 7: 382-389.
- Müller-Schärer H. 1996. Interplanting ryegrass in winter leek: effect on weed control, crop yield and allocation of N-fertiliser. *Crop Protection*, 15: 641–648.
- Podgornik M., Pintar M. 2007. Causes of nitrate leaching from agriculture land in Slovenia. *Acta agriculturae Slovenica*, 89 (1): 207-220.
- Sušin J., Vrščaj B., Bergant J. 2008. Nitriti v podzemni vodi in kmetijstvo. V kazalci okolja v Sloveniji. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije. http://kazalci.arso.gov.si/?data=indicator&ind_id=95 (14.3. 2013).
- Swanton C.J , Weise S.F. 1991. Integrated weed management in Ontario: the rationale and approach. *Weed Technology*, 5: 657- 663.
- Štangelj A. 2009. Ocena izpiranja izbranih herbicidov na obrečnih tleh apaške doline posejane s koruzo. Diplomsko delo, Ljubljana Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 20-30.
- Thill D. C., Lish J. M., Callihan R. H., Bechinski E. J. 1991. Integrated weed management - a component of integrated pest management: a critical review. *Weed Technology*, 5: 648–656.
- Vrabel T.E. 1983. Effects of suppressed white clover on sweet corn yield and nitrogen availability in a living mulch cropping system. Ph.D. thesis. USA, Cornell University, Ithaca, NY.
- Wiles L.J., William R.D., Crabtree G.D. 1989. Analyzing competition between a living mulch and a vegetable crop in an interplanting system. *Journal of American Society of Horticulture Science*, 114: 1029-1034.

POMEN OBVLADOVANJA VEKTORJEV V EPIDEMIOLOGIJI FITOPLAZEMSKIH BOLEZNI

Vlasta KNAPIČ¹

Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, Uprava RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo
rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

V obdobju 1998-2012 smo v Sloveniji zabeležili pomembne gospodarske škode zaradi fitoplazemskih boleznih sadnih rastlin (Apple proliferation, European stone fruit yellows, Pear decline) in vinske trte (Bois noir, Flavescence dorée). Fitoplazme naseljujejo floemske celice rastlin in žuželk, ki se prehranjujejo iz floema. Naravno širjenje med rastlinami omogočajo žuželčji prenašalci, v glavnem škržatki (Hemiptera: Cicadellidae, Cixiidae, Delphacidae in Derbidae) in bolšice (Psyllidae). Fitoplazme se razmnožujejo v tkivih svojih prenašalcev in se med njihovim hranjenjem prenesejo iz žlez slinavk na nove gostiteljske rastline. Fitoplazemska epidemiologija vključuje tritrofično razmerje med patogenom ter pogosto več rastlinskimi gostitelji in prenašalci. V prispevku so podani nekateri vidiki pojava in obvladovanja fitoplazemskih boleznih sadnih rastlin in vinske trte v Sloveniji ter pregled raziskav, ki poudarjajo pomen okoljskega vidika epidemiologije, v katerem je razumevanje tristranskih interakcij med gostiteljsko rastlino, rastlinskim patogenom in fitofagnim vektorjem ključnega pomena za uspešno zatiranje rastlinskih boleznih, kot so te, ki jih povzročajo *Ca. Phytoplasma mali*, *Ca. Phytoplasma prunorum*, *Ca. Phytoplasma pyri* and *Ca. Phytoplasma vitis*.

Ključne besede: fitoplazme, epidemiologija, vektorji, rastlinske bolezni

ABSTRACT

THE IMPORTANCE OF VECTOR CONTROL IN THE EPIDEMIOLOGY OF PHYTOPLASMA DISEASES

In the period 1998-2012 important crop losses have been caused by phytoplasma diseases of fruit crops (e.g. Apple proliferation, European stone fruit yellows, Pear decline) and grapevine (Bois noir, Flavescence dorée) in Slovenia. Phytoplasmas reside endocellularly within the plant phloem and insects, which feed from phloem. Naturally they are spread among plants by insect vectors, mainly leafhoppers (Hemiptera: Cicadellidae, Cixiidae, Delphacidae and Derbidae), and psyllids (Psyllidae). They multiply within the tissues of their insect vectors and are transferred in the salivary secretions to new host plants during feeding. Phytoplasma epidemiology involves a tritrophic relationship between the pathogen and usually several plant hosts and vectors. Some aspects of the occurrence and management of phytoplasma diseases of fruit crops and grapevine in Slovenia are given, following by the latest findings, which highlight the importance of the eco-epidemiological perspective and the understanding of tripartite interactions among host plant, plant pathogen and herbivore vector that is crucial for the successful control of plant diseases as those, caused by *Ca. Phytoplasma mali*, *Ca. Phytoplasma prunorum*, *Ca. Phytoplasma pyri* and *Ca. Phytoplasma vitis*.

Key words: phytoplasma, epidemiology, vector, plant disease

¹ univ. dipl. inž. agr., Dunajska 22, SI-1000 Ljubljana; e-mail: vlasta.knapic@gov.si

1 UVOD

V Evropi ugotavljajo povečano pojavnost fitoplazemskih bolezni zlasti v poznih 1990-ih letih in v prvem desetletju 21. stoletja, tako v kmetijski pridelavi kot v naravnem okolju. Delno je to lahko posledica razpoložljivosti molekularnih diagnostičnih metod, ki so bile razvite v tem obdobju (Euphresco, 2011). Zaradi narasle gospodarske škode v trajnih nasadih, ki se neozdravljivo okužijo in sčasoma propadejo, se v Evropi vse več raziskovalnih skupin ukvarja s preučevanjem kompleksnosti povezav med fitoplazemskim patogenom, njihovimi prenašalci in več rastlinskimi gostitelji (COST action FA 0807; Prima Phacie, 2012).

Preglednica 1: Pregled najdb fitoplazemskih bolezni v okviru fitosanitarnega nadzora v Sloveniji z navedbo potrjenih gostiteljskih rastlin in žuželčnih gostiteljev fitoplazem, obdobjem terenskih pregledov in laboratorijskega testiranja v okviru programov posebnega nadzora oz. inšpekcijskega spremljanja in skupno vrednostjo izplačanih odškodnin za odrejeno uničene rastline v pridelavi v obdobju 2003-2012 (Vir: FURS; Mehle in sod., 2011).

Rastlinska bolezen	Povzročiteljica	Gostiteljska rastlina	Vektor	Posebni nadzor [#] -pričetek (prvi izbruh)	Vrednost odškodnin (€) ^{**}
Zlata trсна rumenica (Flavescence dorée, FD)	'Ca. Phytoplasma vitis' (skupina: brestove rumenice)	<i>Vitis</i> spp. <i>Clematis vitalba</i> , <i>Alnus glutinosa</i>	<i>Scaphoideus titanus</i> (<i>Dictyophara europaea</i> , <i>Orientus ishidae</i>)*	2002 (2005)	431.489
Navadna trсна rumenica (Bois noir, BN)	'Ca. Phytoplasma solani' (skupina: stolbur)	<i>Vitis</i> spp. <i>Urtica dioca</i> (tuf-tip-I) <i>Convolvulus</i> (tuf-tip-II)	<i>Hyalestes obsoletus</i> (<i>Reptalus panzeri</i>)*	2002 (1986)	-
Metličavost jablan (Apple proliferation, AP)	'Ca. Phytoplasma mali' (skupina: AP)	<i>Malus</i> spp. (<i>Prunus avium</i> , <i>P. armeniaca</i> , <i>P. domestica</i>)	<i>Cacopsylla picta</i> , <i>C. melanoneura</i> (<i>C. pyri</i> , <i>C. peregrina</i> , <i>C. affinis</i> , <i>C. crataegi</i>)*	2000 (1999)	2.902
Umiranje hrušk (Pear decline, PD)	'Ca. Phytoplasma pyri' (skupina: AP)	<i>Pyrus</i> spp.	<i>Cacopsylla pyri</i> , <i>C. pyricola</i> (<i>C. pyrisuga</i> , <i>C. peregrina</i> , <i>C. notata</i> , <i>C. crataegi</i>)*	2000 (2002)	20.909
Leptonekroza koščičarjev (European stone fruit yellows, ESFY)	'Ca. Phytoplasma prunorum' (skupina: AP)	<i>Prunus persica</i> , <i>Prunus armeniaca</i> , <i>Prunus domestica</i> , <i>Prunus salicina</i>	<i>Cacopsylla pruni</i> (<i>C. peregrina</i> , <i>C. affinis</i>)*	2002 (2004)	99.525

[#] Posebni nadzor je uradno spremljanje (monitoring) ali sistematična raziskava (ugotavljanja navzočnosti, meja razširjenosti) rastlinskih škodljivih organizmov, ki jo izvaja uradna nacionalna služba za varstvo rastlin več let zapored v skladu z mednarodnim standardom za fitosanitarne ukrepe ISPM 6, rezultati pa služijo opredelitvi ukrepov, določitvi statusa, itd.

^{**}do odškodnine so upravičeni pridelovalci rastlin, če uničenje le-teh odredi fitosanitarni inšpektor zaradi okužbe s karantenskim škodljivim organizmom; ni enako kot gospodarska škoda, ki za Slovenijo ni bila ocenjena

*potencialni vektorji, najdeni kot okuženi s fitoplazmo, ni pa potrjen prenos fitoplazem z rastline na rastlino (COST action FA 0807)

Fitoplazme so biološko gledano edinstvene, saj jih *in vitro* ni mogoče gojiti v umetnih medijih kot druge bakterije, kot obligatni paraziti pa lahko zajedajo raznolike vrste gostiteljskih rastlin (eno- in dvokaličnice) in žuželk iz reda Homoptera, podreda Auchenorrhyncha (škržatki in bolšice). Kadar so te žuželčje vrste sposobne prenašati fitoplazme iz okužene rastline na zdravo, jih imenujemo vektorji (preglednica 1).

Fitoplazme, ki delajo največjo gospodarsko škodo na sadnem drevju: '*Ca. P. prunorum*', '*Ca. P. mali*' in '*Ca. P. pyri*', so si med seboj sorodne - spadajo v glavno filogenetsko skupino metličavosti jablan (Apple proliferation-AP; 16SrX), kažejo pa precejšnjo genetsko variabilnost, ki se odraža v razvoju različno virulentnih sevov v naši regiji (Seemueller in Schneider, 2004; Martini, 2010).

Na vinski trti dela od sredine 1980-ih let občasno gospodarsko škodo navadna trsna rumenica počrnelosti lesa, ki jo povzroča fitoplazma iz skupine stolbur '*Ca. Phytoplasma solani*' (16SrXII-A). V zadnjih letih se z enakimi znamenji okužbe trte pojavlja tudi precej bolj nevarna zlata trsna rumenica, ki jo povzroča fitoplazma iz skupine brestovih rumenic '*Ca. Phytoplasma vitis*' (16SrV-C). Nenavadno je, da kljub popolnoma različnima življenjskima krogoma teh dveh vrst fitoplazem prihaja v vinski trti do mešanih okužb, kar otežuje prepoznavanje bolezni in večja možnost za izmenjavo genetskega materiala med obema vrstama fitoplazem (Hren in sod., 2009).

V rod '*Candidatus Phytoplasma*' (Mollicutes; Acholeplasmatales; Acholeplasmataceae) je do sedaj uvrščenih 35 vrst, 8 med njimi še ni dovolj raziskanih, da bi jih zanesljivo opredelili kot ločene vrste. Čeprav razprave o njihovi klasifikaciji (na podlagi genske sekvence regije 16S rRNA) potekajo že od leta 2000, razvrstitev še ni stalna. Ker hkrati njihova *in vitro* gojitev še ni uspela in Kochov postulat ni izpolnjen, vrste spremlja oznaka '*Candidatus*' (Firrao in sod., 2004). Ker je veliko povzročiteljev fitoplazemskih bolezni in njihovih prenašalcev v Evropi domorodnih, je pri obvladovanju razširjenih bolezni temeljno vprašanje, kateri parametri dinamike razvoja bolezni so se v zadnjem času spremenili, da so prispevali k epifitocijam.

192

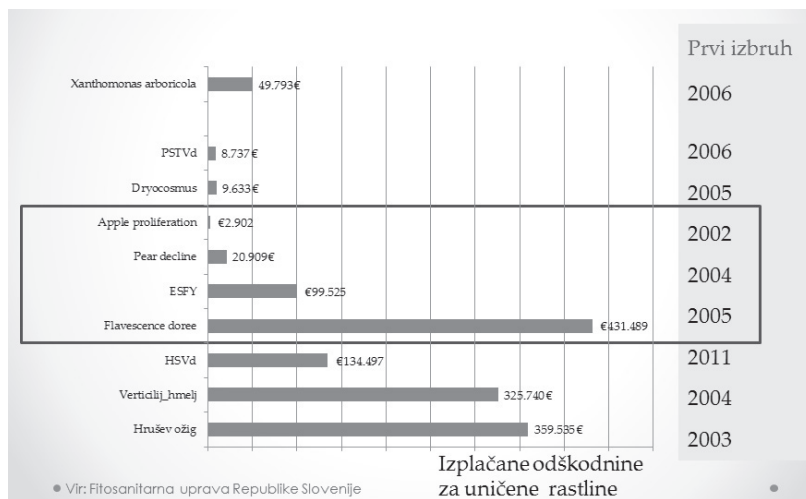
2 STANJE OKUŽENOSTI RASTLIN V SLOVENIJI

Sistematično ugotavljanje zdravstvenega stanja slovenskih sadovnjakov in vinogradov glede karantenskih bolezni in škodljivcev je bilo mogoče šele po vzpostavitvi slovenske organizacije za varstvo rastlin pod okriljem ministrstva za kmetijstvo leta 1994. Prvi nacionalni programi sistematičnih raziskav, ki so obsegali uradno vzorčenje (opravili so ga strokovnjaki za varstvo rastlin na regionalnih kmetijskih zavodih in inštitutih ter fitosanitarni inšpektorji), laboratorijsko diagnostiko in skupno analizo rezultatov v več zaporednih letih, so se pričeli izvajati leta 1998. Pred tem so za posamezno vrsto pridelave dosegljive objave posameznih raziskovalnih skupin, poročila uradnih organov in prognostične službe za varstvo rastlin. V tem prispevku obravnavamo samo rezultate posebnega nadzora fitoplazemskih bolezni trajnih nasadov v Sloveniji, ki so po kriteriju višine izplačanih odškodnin za uradno uničene rastline v obdobju zadnjih desetih let med desetimi najpomembnejšimi boleznimi pri nas (slika 1).

2.1 Metličavost jablan

Metličavost jablan povzročča '*Ca. Phytoplasma mali*', ki je domorodna vrsta, razširjena v Evropi. V pridelovalne nasade jablan se je razširila sredi 20. stoletja tako z okuženim sadilnim materialom kot z bolšicami, med katerimi je glavna prenašalka *Cacopsylla picta*. Prenos na perzistenten način je potrjen tudi z *C. melanoneura*, medtem ko je *C. costalis* potencialni vektor, sum pa ni potrjen za vrsto *Fieberiella florii*. Po oceni se metličavost pojavlja v tretjini slovenskih pridelovalnih nasadov, kjer lahko najdemo od posamičnih simptomatičnih dreves,

pa do petine obolelih dreves, ki sicer ne propadejo, dajejo pa nižji in manj kakovosten pridelek (Osler in sod., 2001). Sistematični nadzor zlasti matičnih nasadov se je izvedel v letih 2002-2004, od leta 2005 dalje pa poteka inšpekcijsko spremljanje vseh mest pridelave rastlinskega razmnoževalnega materiala (Lešnik in sod., 2009). Splošna razširjenost okužbe je bila potrjena v vseh pridelovalnih območjih Slovenije. V celotnem obdobju so se izvajali ukrepi odstranjevanja okuženih matičnih dreves in sadik, tako da je tudi sadilni in razmnoževalni material standardne vzgojne stopnje, pridelan na registriranih mestih pridelave, zadovoljivega zdravja (Osler in sod., 2001). Povečan infekcijski pritisk se je v letih 2010 – 2012 odrazil na osrednjem matičnem nasadu Selo, kjer so bile izvedene znatne krčitve okuženih matičnih dreves.



193

Slika 1: Prikaz vrednosti izplačanih odškodnin za uradno uničene rastline zaradi okužbe z desetimi najbolj škodljivimi nadzorovanimi organizmi v zadnjih desetih letih (2003-2012) v Sloveniji (*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* na sadikah koščičarjev; okužba okrasnih rastlin z viroidom krompirjeve vretenatosti – PSTVd; napad kostanjeve šiškarice na maronih – *Dryocosmus kuriphylus*; fitoplazemske bolezni na matičnih rastlinah sadnega drevja – AP, PD in ESFY; zlata trсна rumenica – Flavescence doree; eradikacijski ukrepi viroidne zakrnelosti hmelja – HSVd in ukrepi preprečevanja širjenja za hrušev ožig – *Erwinia amylovora*).

2.2 Odmiranje hrušk

Odmiranje hrušk povzroča '*Ca. Phytoplasma pyri*' (Seemüller in Schneider, 2004), ki se širi v nova območja z rastlinami za saditev. Glavne gostiteljice so hruške *Pyrus* spp., slabša gostiteljica pa je kutina *Cydonia oblonga*. V pridelovalnih nasadih hrušk se je pojavila v začetku 20. stoletja v Italiji in se z okuženim sadilnim materialom širila na dolge razdalje, lokalno pa z bolšicami, med katerimi sta glavni prenašalki hruševi bolšici *Cacopsylla pyri* in *Cacopsylla pyricola*, ki fitoplazme prenašata na perzistenten način; verjeten vektor pa je tudi *Cacopsylla pyrisuga*. Hruške po okužbi odmirajo. Intenzivnost napredovanja bolezni v rastlinah je odvisna tudi od abiotičnega stresa, zlasti suše in poletne vročine, širitev v nasadu pa je odvisna od populacije bolšic. Sistematični nadzor (zlasti matičnih nasadov) se je izvedel v letih 2002-2004, od leta 2005 dalje pa poteka inšpekcijsko spremljanje vseh mest pridelave rastlinskega razmnoževalnega materiala (Lešnik in sod., 2009). Zaradi majhnega obsega pridelave v Sloveniji večjih škod nismo zabeležili, okužba je bila potrjena v vseh pridelovalnih območjih Slovenije, izkrčene pa so bile okužene matične rastline.

2.3 Leptonekroza koščičarjev

Leptonekrozo koščičarjev (European stone fruit yellows - ESFY), ki jo povzroča fitoplazma '*Ca. P. prunorum*' (Seemüller & Schneider, 2004), specifično prenaša češpljeva bolšica *Cacopsylla pruni* (Scopoli). ESFY se je k nam razširila z zahoda, zlasti iz Italije, kjer pa ne povzroča takšnega odmiranja dreves, kot pri nas. V Franciji so o tej bolezni poročali že leta 1924, v Italiji pa od leta 1933 (Prima Phacie, 2012). V območju Francije, SV Španije in severne Italije so odkrili novo vrsto vektorskih bolšic: *Cacopsylla pinihemata*. Na gojenih in samoniklih vrstah iz rodu *Prunus* se pri nas zelo različno kažejo znamenja okužbe in njihova izraženost. Kot najbolj občutljivi vrsti se kažejo marelica *Prunus armeniaca* in kitajsko-japonska sliva *P. salicina*, pri nas odmira tudi okužena breskev oz. nektarina (*Prunus persica*), medtem ko navadna sliva (*Prunus domestica*) ne kaže znamenj okužb in je ob širjenju fitoplazme na nova območja imela vlogo prikrito okužene založne gostiteljice, ki je bila vir inokuluma. Kot založne rastline lahko poleg domače češplje štejemo še črni trn (*Prunus spinosa*) in mirabolano (*P. cerasifera*). Na prilagodljivost '*Ca. P. prunorum*' kažejo tudi okužbe leske (*Corylus avellana*) v Italiji, latentne okužbe velikega jesena (*Fraxinus excelsior*), rdečega in črnega ribeza ter celo vinske trte (Prima Phacie, 2012).

Izraženost bolezenskih znamenj, zlasti pa odmiranje dreves, je odvisno od vrste in sorte rastlin, virulentnosti seva fitoplazme in tudi od podlage: najmanj občutljivi podlagi sta sliva *Prunus domestica* in mirabolana *Prunus cerasifera* (Prima Phacie, 2012). V sosednji italijanski pokrajini so ugotovili velik delež mešanih okužb marelic in drugih koščičarjev z več različno virulentnimi sevi '*Ca. P. prunorum*', ki jih vse uspešno prenaša češpljeva bolšica (Martini in sod., 2010).

194

Znamenja okužbe so bila pri nas prvič zabeležena na breskvah leta 1989 na Primorskem (Seljak, 2004). Laboratorijsko potrjene pa so bile okužbe novo sajenih nasadov breskev po uvedbi molekularnih diagnostičnih metod na Nacionalnem inštitutu za biologijo leta 2000 (Mehle in sod., 2011). Uradna sistematična raziskava razširjenosti ESFY, ki so jo fitosanitarne službe izvajale v obdobju 2002 do 2004, je potrdila navzočnost okužbe v zahodni, osrednji in vzhodni Sloveniji, kjer je potekala pridelava koščičastega sadja. Za pridelavo zdravega sadilnega materiala in vzdrževanje matičnih nasadov so bili predpisani ukrepi in vzpostavitev neokuženih mest pridelave (pravilnik o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranje fitoplazme ESFY, 2004), uradno vzorčenje pa je od tedaj potekalo le ob sumu na pojav na mestih pridelave cepičev in sadik (na podlagi vidnih znamenj okužbe). Zaradi pogoste okuženosti gostiteljskih rastlin v varovalnih pasovih, ugodnih razmer za bolšice in infekcijskega pritiska iz okolice, se na prostem ni dalo več vzdrževati neokuženih matičnih nasadov breskev, marelic in sliv. Leta 2009 so bile predpisane zahteve za potrjevanje matičnih rastlin v mrežnikih, kamor je osrednji pridelovalec cepičev – Sadjarski center Bilje – posadil zdrav izhodiščni material, ki je dajal vsaj neokužene cepiče, ki jih v naravnih razmerah ni več mogoče pridelovati (Ambrožič Turk in sod., 2011). V matičnem nasadu istega centra na prostem, ki ga s fitosanitarnimi ukrepi (1 km širok varnostni pas brez gostiteljskih rastlin, redni pregledi in testiranja, odstranjevanje okuženih rastlin in intenzivno zatiranje bolšic) ni bilo mogoče ohraniti, pa so opustili pridelavo. Do leta 2012 so zaradi okužbe propadli številni nasadi breskev in nektarin na Primorskem, marelic pa komercialno v Sloveniji praktično ni več mogoče pridelovati, saj se po sajenju okužba z ESFY izrazi do te mere, da še pred vstopom v polno rodnost drevesa propadejo. V Evropski uniji so občutljivost marelice prepoznali in uvrstili '*Ca. P. prunorum*' na karantensko listo že z leta 1977 kot: *Apricot chlorotic leafroll mycoplasma* (direktiva Sveta 2000/29/ES), a kljub karantenskim ukrepom ni bilo mogoče preprečiti njenega širjenja. Kljub temu, da se štejeta tako fitoplazma kot njen vektor *Cacopsylla pruni* kot domorodni v Evropi (Prima Phacie, 2012), v Sloveniji

kaže bolezen zadnji dve desetletji tendenco širjenja iz zahoda proti vzhodu z vnosom inokuluma s sadikami v komercialne nasade. Splošna razširjenost okužbe je bila potrjena v vseh pridelovalnih območjih Slovenije. Na vrtovih vzhodne Slovenije je še vedno mogoče najti stara drevesa marelic, ki so videti zdrava, z obilnim pridelkom, nova drevesa pa ljubitelji vzgajajo zlasti s cepljenjem teh zdravih marelic na sejance sliv.

2.4 Trsne rumenice

Navadna trsna rumenica, ki jo povzroča '*Ca. Phytoplasma solani*' je bila razširjena v pridelovalnih nasadih že v osemdesetih let prejšnjega stoletja, ko so na Štajerskem zabeležili tudi značilne škode občutljivih sort. Ko so leta 1983 na Primorskem odkrili pojav ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*), so znamenja trsnih rumenic povezali z morebitnim pojavom zlate trsne rumenice, ki je tedaj še niso znali diagnosticirati. V letih 1991 – 1995 je B. Koruza poročal o 20– 40% okuženosti s trsno rumenico v vinogradih v vseh pridelovalnih okoliših, ki so bili pregledani v sklopu certifikacije vinske trte za pridelavo sadilnega materiala. Čeprav so bile simptomatične trte izločene iz potrjevanja, se je trsna rumenica vseeno pojavila v več mladih nasadih. Leta 1997 je bila v francoskem laboratoriju potrjena okužba slovenskih vzorcev sort Chardonnay in Rebula z navadno trsno rumenico, ki povzroča počnelost lesa (Bois noir). Ker še ni bilo razvite ustrezne laboratorijske diagnostike, vizualno pa znamenj BN in FD ni mogoče ločevati med seboj, je bilo vse do razvoja natančne molekularne metode precej napačnih objav o pojavu zlate trsne rumenice v Sloveniji. Leta 2002 smo pričeli izvajati uradno sistematično raziskavo navzočnosti trsnih rumenic, Nacionalni inštitut za biologijo pa je vpeljal laboratorijsko testiranje trsnih rumenic (N. Petrovič). Od tedaj se v Sloveniji vsako rastno dobo pod vodstvom fitosanitarne uprave in nacionalnega referenčnega laboratorija za bakteriologijo izvaja po programu posebnega nadzora testiranje gostiteljskih rastlin in žuželčjih prenašalcev iz vseh vinorodnih okolišev ter določanje ne le vrste, temveč tudi seva fitoplazem, da bi čim bolj učinkovito ukrepali in omejili grozečo epifitocijo zlate trsne rumenice (FD), ki jo povzroča '*Ca. Phytoplasma vitis*'.

FD je bila v okviru posebnega nadzora trsnih rumenic prvič ugotovljena leta 2005 v vinogradu v Škofijah pri Kopru v 4 ha velikem matičnem nasadu sivega pinoja italijanskega izvora (znotraj 12 hektarskega kompleksa vinograda), kjer več let niso uporabljali insekticidov. Po treh letih ukrepov zatiranja ameriškega škržatka in odstranjevanja simptomatičnih trt je bilo to prvo žarišče FD na Slovenskem preklicano, ker ni bilo novih pojavov bolezni (FURS, 2010). V naslednjih letih so bile ugotovljene nove najdbe FD v slovenski Istri, leta 2008 pa prvič tudi na Dolenjskem v bližini Brežic. (Seljak in Orešek, 2007)

Ameriškega škržatka na vzhodu Slovenije v sklopu monitoringa niso mogli najti pred letom 2003, kljub temu pa je po letu 2006 njegova populacija skokovito narasla in omogočila izbruhe FD. V letih 2009 - 2012 so bila razmejena naslednja prva žarišča FD v novih okoliših (FURS, 2012):

- v Istri: Debeli Rtič (2006), Koštabona (določeno v letu 2007 in razširjeno 2010); Pobegi (določeno leta 2009 in razširjeno 2012); razširjeno žarišče Viližan-Grintovec (določeno leta 2010 in razširjeno leta 2011 in 2012) in Strunjan (določeno leta 2012);
- na Goriškem in Krasu: Gradišče nad Prvačino in Vogrsko (določeni leta 2009 in razširjeni 2011); Dane pri Sežani (določeno leta 2011); Križ na Krasu, Šmarje pri Sežani in Brje pri Komnu (določeni leta 2012);
- na Dolenjskem, v Posavju in Beli Krajini: Piroški vrh (določeno leta 2008); Debenec in Orehovica (določena leta 2009); Boršt (določeno leta 2010); razširjeni žaršči Straža pri Novem mestu ter Ljuben-Reber (določeni leta 2009 in razširjeni v letih 2010, 2011 in 2012);

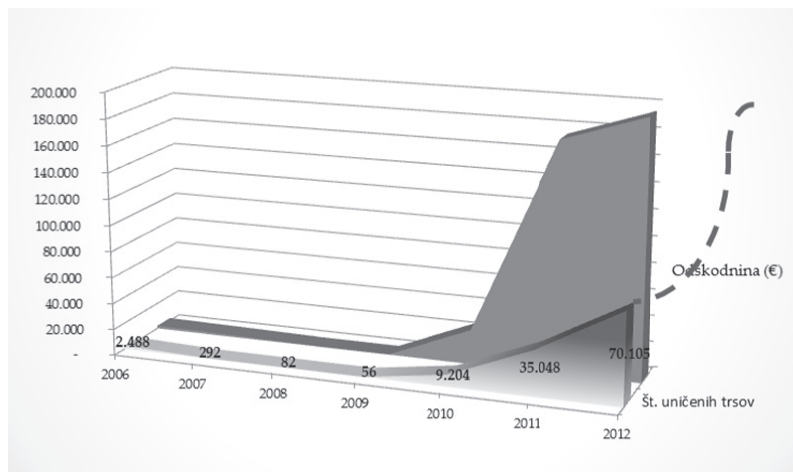
Golobinjek (določeno 2010 in razširjeno 2011); Senuše, Piršenbreg in Orešje pri Bizeljskem (določena leta 2012);

– na Štajerskem: Ivanjševski vrh (določeno leta 2011), Počehova (določeno leta 2009), Zgornji Gabrnik v bližini Rogaške Slatine (določeno leta 2012), Svetinje pri Ormožu (določeno leta 2012);

– v Prekmurju: Dobrovnik (določeno leta 2009), Gerlinci (določeno leta 2010), Pince (določeno leta 2012).

V vinogradih vseh žarišč (1 km krog okoli središča okuženega vinograda) in pripadajočih varnostnih pasovih (5 km krog okoli žarišča) so se pod nadzorom fitosanitarnih služb izvajali ukrepi zatiranja in intenzivnejše pregledovanje v vinogradih. Med posebnim nadzorom je bilo ugotovljeno, da so bile v žariščih, razmejenih v letih 2008 - 2010 s FD okužene le posamezne trte, razen prvih dveh izbruhov v okolici Straže pri Novem mestu in v Viližanu pri Izoli, kjer so bile okužbe množične, populacija ameriškega škrzatka pa velika. Pri žarišču Straža in nasploh na Dolenjskem gre za večji delež majhnih vinogradov (povprečna velikost registriranega vinograda 0,28 ha), kjer raste tudi nežlahtna vinska trta, na Primorskem pa gre pretežno za večje tržne pridelovalce (povprečna velikost registriranega vinograda 1,1 ha). Ne prvi ne drugi pa pri kemičnem varstvu vinske trte niso vključevali insekticidov. To je tudi glavni razlog, da je število izbruhov tod kljub predpisanim ukrepom in trudu služb na terenu naraščalo. Leto 2010 lahko štejemo za začetek epifitocije, saj je bila FD odkrita na 12 novih lokacijah (na 6 lokacijah so bila razmejena žarišča, ostalo so bile razširitve že obstoječih žarišč).

196



Slika 2: Prikaz števila uničenih trsov in izplačane odškodnine zaradi zlate trsne rumenice od prve najdbe v letu 2005 do 2012 (FURS, 2012). Črtkana črta nakazuje morebiten trend v prihodnjih letih glede na epidemiološko osnovno reprodukcijsko število (Jeger, 2009).

Posebni nadzor trsnih rumenic vključno s sistematično raziskavo je doslej najdražji program, ki se je kadarkoli financiral za rastlinsko bolezen iz deleža državnega proračuna Ministrstva za kmetijstvo in okolje. Več sto sumljivih vzorcev trt in drugih gostiteljskih rastlin in žuželk, ki se laboratorijsko diagnosticirajo, naberejo pooblaščen pregledniki in fitosanitarni inšpektorji. V letu 2009 se je prvič zaradi povečanega pojava sumljivih trt število testiranj povečalo za 52% glede na predhodno leto (na 372) in nekeje na tej ravni tudi ostalo v

naslednjih letih. Strošek posebnega nadzora je znašal v letu 2010 62.295 EUR, pa še ni zadoščal za sistematični pregled vinorodnih okolišev. Vlada RS je nato sprejela ukrepe za preprečitev večje gospodarske škode s programom izvedbe 2010-2011, a je ministrstvo povečana finančna sredstva zagotovilo samo za leto 2010: skupaj 611.342 EUR. Od tega je bilo 73% sredstev porabljenih za terenske preglede in vzorčenje, poskuse zatiranja in spremljanje zatiranja ameriškega škrtatka. V letu 2011 je bilo uradno pregledanih 923 ha vinogradov v žariščih in 9503 ha vinogradov v neposredno ogroženem varnostnem območju okoli žarišč zlate trsne rumenice. Kljub novim izbruhom do leta 2012 med uradnimi zdravstvenimi pregledi registriranih trsnic niso odkrili okuženih rastlin, prav tako nobena od trsnic ni padla v razmejeno žarišče bolezni. Kompleksnost zlate trsne rumenice se je pokazala za novo odkritimi okuženimi gostiteljskimi rastlinami (navadni srobot *Clematis vitalba*, črna jelša *Alnus glutinosa*, veliki pajesen *Ailanthus altissima*) in vektorskimi škrtatki (*Scaphoideus titanus*, *Dictyophara europaea*, *Orientus ishidae*) (FURS, 2012).

V razmejenih žariščih je zaradi odstranitve trt nastala škoda, ki je bila pridelovalcem povrnjena v obliki odškodnine za uničene rastline. Na polovici amortizacijske dobe znaša odškodnina za 1 ha povprečnega rodnega vinograda na terasah po trgatvi 24.120 EUR, če gre za vinograd z nežlahtno trto (samorodnica) je za 1 ha odškodnina 6.615 EUR. Tudi izplačane odškodnine zaradi FD so po letu 2010 skokovito narastle (slika 2).

3 TRITROFIČNO RAZMERJE: FITOPLAZMA – VEKTOR - RASTLINA

197

Vir inokuluma za okužbo krošnje dreves, ki nam dajejo pridelek, je spomladi: ali okužena podlaga, kjer fitoplazme prezimijo v koreninskem floemu, ali pa okužena žuželka – prenašalka. Fitoplazme sadnega drevja prenašajo različne vrste bolšic, ki imajo eno generacijo letno (enako škrtatki pri vinski trti). Bolšice se pozno poleti in jeseni selijo npr. s koščičarjev na iglavce - zimske gostitelje v gozdu – po prezimitvi pa nazaj na koščičarje (rod *Prunus*). Fitoplazma se v žlezah slinavkah bolšic namnožuje in ko doseže določeno število, se ob nadaljnjih vbodih v floem rastlin s slino prenese v rastlino, kjer se zopet prične namnoževati. Po okužbi s fitoplazmo ostane bolšica kužna do konca svojega življenja. Tako npr. v prezimujoči hruševi bolšici prezimi tudi fitoplazma, ki na ta način postane tudi mobilna: spomladi jo bo žuželka ponesla na velike razdalje do gostiteljske rastline. PD lahko hruševa bolšica med hranjenjem prenaša vso rastno dobo. Češpljeva bolšica prenaša že po 2-4 dneh hranjenja na okuženem drevesu lahko posrka fitoplazmo '*Ca. P. prunorum*' in jo v nekaj dneh tudi prenaša naprej (Prima Phacie, 2012). Kako da so ti prenosi tako uspešni kmalu po prihodu na nova območja naselitve?

Raziskave navajajo posredni mutualizem med žuželčjimi prenašalci in fitoplazemskimi povzročiteljicami bolezni kot vzvod za naselitev novih škodljivih vrst na območje. Modelna analiza (Nakazawa *et al.*, 2012) kaže, da se lahko bolezen po ustalitvi na območju trajno obdrži, čeprav je začetna zastopanost povzročitelja in/ali vektorja nizka, zlasti če se prenašalec hrani na občutljivih rastlinah. Patogeni lahko povzročijo spremembe v odzivih njihovih rastlinskih gostiteljic in vplivajo na frekvenco in naravo interakcij med gostitelji in prenašalci. V okuženih rastlinah se spremeni rastlinska morfologija in kemizem (izločanje metabolitov, spremenijo se volatilne snovi in sprejem hranil), to pa lahko vpliva na rodnost, preživetje in obnašanje žuželčjih prenašalcev. Ugotovili so, da okužba izboljšuje hranilno kakovost rastlin, tako da se fitofagi vektorji raje hranijo na okuženih rastlinah kot na zdravih (Nakazawa *et al.*, 2012). Pri proučevanju epidemiologije '*Ca. Phytoplasma mali*' so ugotovili, da fitoplazma sproži v jablanah tvorbo alomona β -kariofilena, ki privablja izglede odrasle bolšice *Cacopsylla picta* (Mayer in sod., 2008), in sicer ne glede na to, ali je bolšica s fitoplazmo že okužena ali ne. Sintetični β -kariofilen so tako pričeli uporabljati za privabljanje samcev in samic jabolčne bolšice na rumene lepljive plošče, ki so jih uporabljali pri

spremljanju fenofaz razvoja, odkritje pa je obetavno celo za razvoj nekemične metode zatiranja bolšic z masovnim lovljenjem na vabe (Mayer in sod., 2008).

Vedno več empiričnih dokazov podpira idejo, da posredni mutualizem med prenašalci in povzročitelji bolezni s pozitivno povratno informacijo prispeva k uspešnosti invazije in bolezenski pandemiji. Pri tem velika populacija prenašalcev niti ni nujno potrebna, tako da princip epidemiološkega osnovnega reprodukcijskega števila (R_0 , je število primerov okužbe, ki jih v povprečju povzroči en primerek med dobo infekcije in pove osnovno reprodukcijsko število) v tem primeru ne pride v poštev (Jeger, 2009). Ta odkritja kažejo, da je spomladansko določanje praga škodljivosti bolšic neprimerno za uspešno preprečevanje prenosa okužbe.

Okužba s fitoplazmo dobesedno privablja krilate vektorje in izboljša prehransko vrednost rastline za vektorje, kar pripomore k večjemu uspehu prenosa na druge rastline. Tudi pri prenosu fitoplazem s škržatki so dokazali mutualizem: škržatek ob hranjenju vnese fitoplazme (Aster Yellows - sev Witch's Broom) v hranilno bogato floemsko tkivo, kjer fitoplazme izločajo beljakovino SAP11, ki potuje iz žile v sosednje fotosintetsko aktivno tkivo in v celičnem jedru zavira sintezo spojin, ki zmanjšajo obrambno sposobnost rastline (celjenje ran) – to je ugodno za razvoj škržatkov, ki imajo več potomcev, več jih preživi in se hrani na okuženi rastlini ter prispeva k epidemilogiji bolezni. Fitoplazme tako aktivno dosežejo odziv in širitev s pomočjo prenašalcev (Sugio in sod., 2011).

4 RAZPRAVA IN SKLEPI

198

Vedno več vektorskih vrst, ki potrjeno ali domnevno prenašajo *Ca. Phytoplasma mali*, *Ca. Phytoplasma prunorum*, *Ca. Phytoplasma pyri* in *Ca. Phytoplasma vitis*, ter širok nabor gostiteljskih rastlin zahteva večje znanje in celosten pristop v epidemiologiji fitoplazemskih bolezni. Njihova razširjenost kaže, da so te vrste fitoplazem endemične v Evropi. Z intenziviranjem kmetijske pridelave, pojavom novih gostiteljskih vrst, ki se invazivno širijo v našem okolju, zmanjševanjem rabe insekticidov ter klimatskimi spremembami z dvigom povprečne letne temperature v zadnjih dveh desetletjih pa so te fitoplazme pričele povzročati gospodarsko škodo v pridelavi, kljub temu, da so na karantenskih listah od leta 1977 dalje (Prima Phacie, 2012).

V obdobju 1960-2000 so poročali o najdbah preko 40 za Evropo novih fitofagih žuželjih vrst, od tega štirih novih neevropskih vrstah škržatkov Auchenorrhyncha, ki so se razširili v Slovenijo po vnosu v sosednje države (Seljak, 2002). Eden izmed njih je tudi ameriški škržatek *Scaphoideus titanus* Ball, 1932 (Cicadellidae). Pri analizi širjenja *Ca. Phytoplasma vitis* v slovenske vinograde, ki jo fitosanitarne službe izmed vseh karantenskih bolezni najbolj intenzivno spremljajo, je očiten pojav oziroma izbruh bolezni po vsaki namnožitvi ameriškega škržatka, ki zelo učinkovito prenaša fitoplazmo med trtami. Tujerodni ameriški škržatek se je širil z zahoda (iz vinogradov Francije in Italije), leta 1983 dosegel Primorsko in 20 let kasneje Dolenjsko, nato pa postopoma do leta 2005 še preostale vinorodne okoliše v vzhodni Sloveniji. Zanimivo je, da na Primorskem več kot 20 let ni povzročil izbruha zlate trsne rumenice, medtem ko je v vzhodni Sloveniji do izbruhov prišlo že 5 do 8 let po najdbah prvih odraslih osebkov ameriškega škržatka. Toda tudi v vinorodnih okoliših zahodne Slovenije je v letih 2010 – 2012 prišlo do velikih izbruhov zlate trsne rumenice, tako da razlik v nevarnosti epifitocije med zahodno in vzhodno Slovenijo ni več. Ali sta k temu naraščanju infekcijskega potenciala pripomogla vnos in širitev novih vektorjev (npr. *Orientalus ishidae*, ki je bil 2004 prvič najden pri nas, leta 2009 pa potrjen kot okužen s FD) ali nove gostiteljice (npr. okuženi veliki pajesen *Ailanthus altissima*, ki se invazivno širi iz vrto in parkov), ostaja odprto vprašanje. Na Krasu so s tem pajesnom sicer pogozdovale neporaščene bregove že ob koncu 19. st., a lahko da sta sedaj njegova povečana populacija v naravnem okolju blizu vinogradov in nova vektorska vrsta sklenila nov krog prenosa – v sosednjih pokrajinah severne Italije so

namreč potrdili, da je zelo pogosto prikrito okužen z enakim sevom *Ca. Phytoplasma vitis* kot navadni srobot (COST action FA 0807: Filippini in sod., 2010).

Pojavnost boleznih pri gojenih večletnih rastlinah ob slabem zatiranju vektorjev v zadnjih letih povečuje inokulum in otežuje ali celo onemogoča pridelavo npr. marelic, breskev. Fitoplazemske bolezni je težko obvladovati, ko se ustalijo na območju pridelave. Teoretično se za njihovo obvladovanje navajajo integrirane tehnike zatiranja z uporabo koristnih organizmov, biotehnologije in odpornosti rastlin (odpornost sorte lahko temelji na odpornosti rastlin na hranjenje vektorja). V praksi pa so glavne metode obvladovanja karantenski (preventivni) ukrepi, certificiranje rastlinskega reprodukcijskega materiala in tretiranje vektorjev z insekticidi. Pri upočasnjevanju širjenja in gospodarskega vpliva bolezni sta najpomembnejša dejavnika zmanjševanje fitoplazemskega inokuluma in učinkovito zatiranje vektorjev. Pri zmanjševanju uporabe insekticidov pa sta najpomembnejša elementa izboljšano spremljanje vektorjev in napovedovanje ustreznih tretiranj žuželčjih prenašalcev fitoplazem skupaj z uvedbo dopolnilnih trajnostnih in nekemičnih metod zmanjševanja populacij.

Organizirano spremljanje in sistematično raziskovanje z združevanjem znanja javnih in državnih institucij sicer znaša 30 – 60.000 € za posamezen monitoring, Vendarle je to le 0,1 – 0,5 % vrednosti gospodarske škode, ki bi nastala, če bi brez ukrepanja v petletnem obdobju propadlo 20% slovenske pridelave. V vinorodnih območjih Slovenije je okoli 22.000 ha vinogradov, ki jih obdeluje več kot 40.000 pridelovalcev, skupna vrednost ogrožene proizvodnje pa znaša letno okoli 62.000.000 EUR za grozdje in okoli 6.000.000 EUR za trsničarsko pridelavo (FURS, 2010). Dodati bi bilo potrebno še neocenjeno vrednost kulturne krajine, ki postane prizadeta, ko se prične na težko dostopnih območjih opuščati pridelava v trajnih nasadih. Tako opuščanje je zabeleženo v primerljivih gričevnatih območjih severne Italije in Južne Francije po razširitvi zlate trsne rumenice. Pa tudi na Primorskem po razširitvi '*Ca. Phytoplasma prunorum*' v nasadih breskev ali o razširitvi virus šarke v nasadih sliv. Čeprav so med nedavno oceno tveganja za '*Ca. Phytoplasma prunorum*' raziskovalci zaključili, da so ESFY in njeni vektorji domorodni v Evropi, kjer povzročajo škodo v pridelavi marelic, breskev in japonskih sliv, vendarle ni mogoče prepustiti pridelave sadik teh vrst brez uradnega nadzora komercialnih pridelovalcev, sicer nikjer v Evropi ne bo mogoče zaupati, da so sadike naprodaj brez fitoplazem ali šarke. Tudi spremljanje vektorjev in oblikovanje vedno novih in učinkovitih metod zatiranja, ki bodo omogočale gospodarno kmetijsko pridelavo in bile še naravi in človeku prijazne, ni mogoče brez koordinirane strokovne službe varstva rastlin.

5 LITERATURA

- Ambrožič Turk, B., Fajt, N., Seljak, G., Veberič, R., Mehle, N., Boben, J., Dreo, T., Ravnikar, M. 2010. Occurrence of European stone fruit yellows (ESFY) in Slovenia - possibilities of healthy mother plants cultivation in insect-proof nethouse, 2010. V: Rallo, Luis (ur.). Science and Horticulture for people: abstracts.: International Society for Horticultural Science, 2010: 268.
- COST action FA 0807: Integrated Management of Phytoplasma Epidemics in Different Crop Systems <http://costphytoplasma.eu/>
- Euphresco 2011. FruitPhytoInterLab Group: European interlaboratory comparison and validation of detection methods for '*Candidatus Phytoplasma mali*', '*Candidatus Phytoplasma prunorum*' and '*Candidatus Phytoplasma pyri*': preliminary results.- Bulletin of Insectology 64 (Supplement), 2011: 281-284. <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol64-2011-S281-S284euphresco.pdf>
- Firrao G., Andersen, M., Bertaccini, A., Boudon, E. et al., 2004. '*Candidatus Phytoplasma*' a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 54, 1243-1255.
- FURS, Spis škodljivih organizmov in druge evidence Fitosanitarnе uprave Republike Slovenije, zbrane v letih 1999 – 2012.

- Hren, M., Nikolić, P., Rotter, A., Blejec, A., Terrier, N., Ravnikar, M., Dermastia, M., Gruden, K. 2009. Bois noir phytoplasma induces significant reprogramming of the leaf transcriptome in the field grown grapevine. *BMC Genomics*, 2009: 10, 460: 38 str. doi: 10.1186/1471-2164-10-460.
- Jeger, M (2009) Epidemiology of Plant Disease.- DOI: 10.1002/9780470015902.a0021268
- Lešnik, Mo., Pavlič, E., Lešnik, Ma. 2009. Rezultati spremljanja pojava fitoplazem AP (*Candidatus Phytoplasma mali*) in PD (*Candidatus Phytoplasma pyri*) v Sloveniji.- Zbornik predavanj in referatov 9. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Nova Gorica, 4.–5. marec 2009: 255-260.
- Martini, M., Ferrini, F., Danet, J.-L., Ermacora, P., Sertkaya, G., Delić, D., Loi, N., Foissac, X., Carraro, L. 2010. PCR/RFLP-based method for molecular characterization of '*Candidatus Phytoplasma prunorum*' strains using the *aceF* gene.- 21st International Conference on Virus and other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops, Julius-Kühn-Archiv, 2010: 427.
- Mayer, C. J., Vilcinskas, A., Gross, J. 2008. Pathogen-induced Release of Plant Allomone Manipulates Vector Insect Behavior. *Journal of chemical ecology* 2008, 34,12: :1518-22.
- Mehle, N., Ravnikar M., Seljak G., Knapič V., Dermastia M. 2011. The most widespread phytoplasmas, vectors and measures for disease control in Slovenia. *Phytopathogenic Mollicutes*, Vol. 1(2): 1-12.
- Mehle, N., Rupar, M., Seljak, G., Orešek, E., Knapič, V., Ravnikar, M., Dermastia, M. 2010. Molecular diversity of "flavescence dorée" - associated phytoplasmas in Slovenian grapevine, *Clematis vitalba* and other potential vector. V: Bertaccini, Assunta (ur.), Laviña, Amparo (ur.), Torres, Ester (ur.). *Current status and perspectives of phytoplasma disease research and management : abstract book of the combined meeting of Work Groups 1-4, [February 1st and 2nd 2010, Stiges, Spain] : COST action FA0807: integrated management of phytoplasma epidemics in different crop systems.* 2010: 24.
- Nakazawa, T., Yamanaka, T., Urano S. 2012. Model analysis for plant disease dynamics co-mediated by herbivory and herbivore-borne phytopathogens.- *Biology letters*, doi:10.1098/rsbl.2012.0049
- Osler, R., Petrovič, N., Ermacora, P., Seljak, G., Brzin, J., Loi, N., Cararro, L., Ferrini, F., Refatti, E. 2001: Control strategies of apple proliferation, a serious disease occurring both in Slovenia and in Italy. V: Dobrovoljc, Danica (ur.), Urek, Gregor (ur.). Zbornik predavanj in referatov 5. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin v Čatežu ob Savi od 6. do 8. marca 2001. Ljubljana: DVRS, 2001: 238-243.
- Prima Phacie, 2012. Pest risk assessment for the European Community plant health: A comparative approach with case studies. External scientific report by group of authors: <http://www.efsa.europa.eu/fr/supporting/doc/319e.pdf>
- 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 and Evolutionary Microbiology* 2004, 54: 1217–1226.
- Seljak, G. 2004: Contribution to the knowledge of planthoppers and leafhoppers of Slovenia (Hemiptera, Auchenorrhyncha). *Acta Entomologica Slovenica*, 12 (2): 189-216.
- 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?]. *Izvečki referatov 8. Slov. posv. o varstvu rastlin, Zreče 2007*: 54-55.
- Seljak, G. 2002. Non-european Auchenorrhyncha (Hemiptera) and their geographical distribution in Slovenia. *Acta entomol. slov.* (Ljubl.), vol. 10, 1: 97-101.
- Sugio, A., Kingdom, H. N., MacLean A. M., Grieve V.M., Hogenhout, S.A. 2011. "Phytoplasma protein effector SAP11 enhances insect vector reproduction by manipulating plant development and defense hormone biosynthesis". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108 (48): E1254–E1263. doi:10.1073/pnas.1105664108

NOVOSTI PRI DALJINSKEM ZAZNAVANJU ŠKODLJIVCEV

Matej ŠTEFANČIČ¹, Mateja ŠTEFANČIČ²

^{1,2} EFOS informacijske rešitve d.o.o., Razdrto

IZVLEČEK

Klasičen proces spremljanja pojava škodljivih žuželk je časovno potraten ter hkrati od osebja, ki izvaja spremljanje zahteva dosti obiskov terena, kar ima za posledico znatne potne stroške. Poleg tega je eden ključnih dejavnikov v modernem kmetijstvu za možnost pridobitve podatkov s terena v realnem času, kar s klasičnim pristopom praviloma ni možno, oz. za to navadno nimamo dovolj človeških in finančnih virov. Sistem trapview, omogoča vpogled v stanje na terenu v realnem času, kar bistveno olajša in izboljša odločanje o ukrepih povezanih z zatiranjem škodljivcev. V prispevku se bomo osredotočili na ključne izzive povezane s spremljanjem pojava škodljivcev v modernem kmetijstvu ter kako nam pri soočanju z njimi lahko pomaga informacijska tehnologija.

Ključne besede: avtomatsko spremljanje škodljivcev, informacijska tehnologija, vaba, žuželke

ABSTRACT

REMOTE PEST MONITORING

Pest monitoring is time and labour intensive process which requires lots of field visits and generates significant travel costs. One of key elements of precision agriculture is availability of real time data. This is something that is nearly impossible to achieve with classic field scouting approach since it would require too many human and financial resources. Trapview system enables real-time monitoring of pests which can significantly simplify and improve pest management decisions. This article focuses on key challenges related to pest monitoring in modern agriculture and how they can be addressed with information technology.

Key words: automated pest monitoring, information technology, insects, trap

1 UVOD

V zadnjih 50 letih se je število prebivalstva podvojilo [1], pri čemer se je skupna površina obdelovalnih zemljišč povečala zgolj za 12%, pač pa so se hektarski pridelki povečali za 250-300% [2]. Bi nam to uspelo brez znanja, raziskav, tehnologije ter predvsem uporabe vsega tega v praksi? Zagotovo ne!

Eden od zanimivih izzivov v kmetijstvu je avtomatizacija spremljanja pojava škodljivcev. Spremljanje ekonomsko pomembnih škodljivcev temelji na vabah, ki so postavljene na terenu. Za ustrezno ukrepanje pri zatiranju teh škodljivcev je potrebno ulov v vabah redno spremljati, saj je pri spremljanju škodljivcev preveč zunanjih dejavnikov, da bi se lahko zanašali zgolj na razne fenološke modele.

¹ univ. dipl. inž. rač. in inf., Razdrto 47b, SI-6225 Hruševje

² dr. agr. znan., prav tam

V nadaljevanju bomo predstavili nekatere glavne težave pri klasičnem spremljanju škodljivcev, prikazali osnovne koncepte avtomatskega sistema za spremljanje škodljivcev trapview ter orisali možne nadaljnje smeri razvoja.

2 TEŽAVE PRI KLASIČNEM SPREMLJANJU ŠKODLJIVCEV

Čeprav je zatiranje škodljivcev najverjetneje staro ravno toliko kot kmetijstvo samo, se je koncept „integriranega zatiranja škodljivcev“ prvič pojavil v 50-h letih 20. stoletja v ZDA. Eden od ključnih stebrov pri tovrstnem zatiranju je tudi spremljanje pojava škodljivcev, saj je to osnova za nadaljnje aktivnosti (povzeto po [3]).

Na osnovi intervjujev/pogovorov z velikimi pridelovalci, svetovalnimi službami, raziskovalci ter fitofarmaceutskimi podjetji smo identificirali naslednje glavne pomanjkljivosti klasičnega pristopa pri spremljanju pojava škodljivcev, ki temelji na fizičnem pregledovanju vab na terenu:

- fizično pregledovanje je delovno intenzivna aktivnost, ki ima za posledico tudi visoke potne stroške
- intervali pregledov so običajno predolgi za kvalitetne odločitve, kar je še posebej izrazito pri nekaterih novejših metodah zatiranja škodljivcev
- trg in zakonodaja zahtevajo zniževanje količin ostankov fitofarmaceutskih sredstev v pridelkih
- nekateri trgi zahtevajo dokaze, da se škodljivci ne bodo prenašali z uvozom pridelkov.

202

Vsi naštetih problemi so med seboj povezani.

2.1 Fizično pregledovanje vab

Več strokovnjakov z različnih svetovalnih služb je podalo zelo podobno oceno; v povprečju potrebuje svetovalc za pregled posamezne vabe 45 minut, in pri tem naredi približno 15 kilometrov. Zaradi tega se pregled vab izvaja praviloma enkrat tedensko, sicer bi potrebovali bistveno več usposobljenega kadra za pregledovanje, pri čemer bi poleg stroška dela bistveno narasli tudi potni stroški.

2.2 Intervali pregledov

Tedenski intervali pregledov vab so v ključnih trenutkih (predvsem pri določanju prvega pojava škodljivcev - biofixa) premalo natančni. Tako ne vemo ali smo imeli biofix na začetku ali na koncu opazovanega obdobja, ne vemo ali ni število ujetih škodljivcev bilo v tem obdobju večje, vendar so jih odstranili/pojedli njihovi naravni sovražniki kot so recimo pajki, strige ali ptiči,... Vse to lahko privede do napačnih odločitev. V primeru uporabe modernih tehnik zatiranja škodljivcev, kot je recimo metoda zbeganja (konfuzija) je problem predolgih intervalov pri pregledovanju vab še bolj pereč. V takih primerih potrebujemo vpogled v stanje ulovljenih škodljivcev v vabah namenjenih monitoringu tako rekoč v realnem času, saj je tak ulov indikator, da je prišlo do napake v delovanju sistema konfuzije, na katero je potrebno nemudoma reagirati. Podobno je z nekaterimi biopripravki, ki potrebujejo bistveno bolj skrbno spremljanje ulovljenih škodljivcev, kot je to veljalo pri klasičnih fitofarmaceutskih sredstvih.

2.3 Pritisk tržišča in zakonske obveze

Anketa Evrobarometra iz leta 2010 [4] navaja, da je nevarnost, da bi zaužita hrana predstavljala nevarnost za zdravje uvrščena na četrto mesto potencialnih nevarnosti, ki vplivajo na naše zdravje (za ekonomsko krizo, onesnaženostjo okolja in resnimi boleznimi ter pred prometnimi nesrečami, in kriminalom). Ob tem so kot največja nevarnost povezana s prehrano prepoznani ostanki fitofarmaceutskih sredstev, kemičnih proizvodov ter toksinov. Pogovor z mnogimi pridelovalci kaže na to, da se pritisk tržišča po čim bolj zdravi – a še vedno kvalitetni hrani prenaša od potrošnikov, prek trgovcev na proizvajalce. Tudi zakonodaja, kot je recimo Direktiva 2009/128/ES [5] zahteva enako usmeritev. Posledica vseh teh zahtev je usmeritev v pridelavo pridelkov s pomočjo metod, ki zmanjšujejo ostanke fitofarmaceutskih sredstev. To v večini primerov pomeni potrebo po ažurnem, natančnem in preverljivem načinu za spremljanje populacije škodljivcev na terenu.

2.4 Strah pred širjenjem škodljivcev prek trgovine s svežim sadjem in zelenjavo

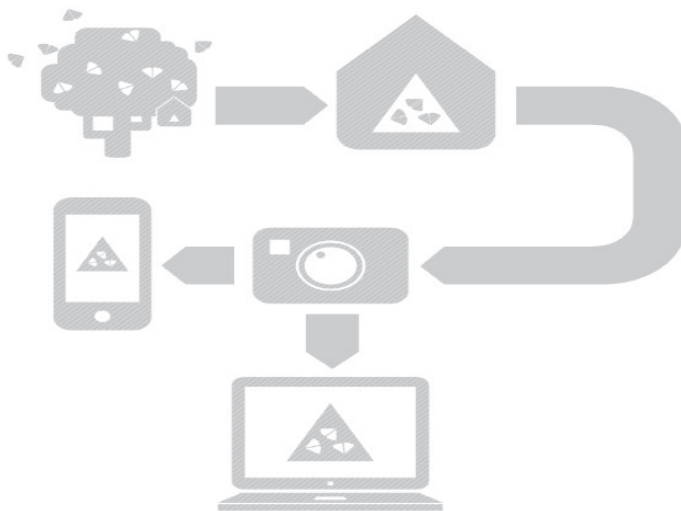
Zaradi globalne trgovine je skoraj nemogoče preprečiti širjenje škodljivcev med območji, kamor se po naravni poti določen škodljivec ne bi mogel razširiti. Vseeno države poskušajo z raznimi ukrepi to možnost zmanjšati na minimum. Primer tega je recimo Japonska, ki pri uvozu sadja iz Čila zahteva od dobavitelja dokaz (praviloma so to slike lepljivih plošč v vabah za spremljanje določenega škodljivca), da določenega škodljivca ni bilo v nasadu v zahtevanem obdobju pred izvozom. Zbiranje takih slik je praviloma drag in administrativno zahteven postopek.

203

3 SISTEM ZA AVTOMATSKO SPREMLJANJE ŠKODLJIVCEV TRAPVIEW

Izzivi opisani v uvodu so nas vodili k razvoju sistema za avtomatsko spremljanje škodljivcev, ki izpolnjuje naslednje kriterije: je učinkovit pri lovljenju škodljivcev; omogoča vpogled v stanje na terenu v realnem času, kar realno ni mogoče doseči z nobeno klasično metodo spremljanja (zahteva, ki je ob uporabi modernih tehnik zatiranja škodljivcev ključna); bistveno zmanjšuje potrebo po obiskih terena zaradi spremljanja škodljivcev; znatno poenostavlja administracijo povezano s spremljanjem škodljivcev; je cenovno ugoden, tudi ob upoštevanju nizkih urnih postavk delovne sile.

Tako smo v treh letih raziskav in razvoja razvili sistem, ki ima na terenu delta vabah s feromonom. Te so s pomočjo vgrajene napredne elektronike, sposobne slikati površino lepljive plošče, na katero se ujamejo škodljivci ter te slike prek standardnega omrežja GSM in protokola za prenos podatkov GPRS poslati na strežnik. Vsaka vaba ima vgrajeno baterijo, ki se polni prek sončne celice, s čimer je zagotovljena njena popolna avtonomnost. Podatki poslani z vab se s pomočjo vrste zahtevnih programskih algoritmov (eden od njih je recimo avtomatska prepoznavna škodljivcev) obdelajo na način, da so ustrezni za uporabnika, ki lahko kjerkoli in kadarkoli spremlja dogajanje glede populacije določenih škodljivcev na terenu prek spletne ali mobilne aplikacije. Osnovni koncept sistema je prikazan na sliki, ki sledi:



Sistem je bil preizkušen na vseh kontinentih in je pri tem pokazal, da uspešno izpolnjuje kriterije, ki so bili postavljeni ob začetku razvoja.

204 4 SKLEP

Za uspešno zatiranje gospodarsko pomembnih škodljivcev je ključno, da imamo natančne in ažurne podatke o stanju njihove populacije. To dobimo s pomočjo rednega spremljanja ulova v ustreznih vabah, za kar so potrebni dragi in posledično ne vsakodnevni obiski terena. Nove metode zatiranja škodljivcev, kot je recimo metoda zbeganja, zahtevajo vpogled v ulov v vabah za spremljanje škodljivcev v čim krajših intervalih. Pri teh izzivih modernega kmetijstva nam lahko pomaga informacijska tehnologija. V prispevku smo predstavili sistem za avtomatsko zaznavo škodljivcev trapview, ki s pomočjo slik posredovanih iz avtomatskih delta vab omogoča vsem pooblaščenim uporabnikom hkratni vpogled v stanje na terenu kadarkoli in kjerkoli. V prihodnosti bo nadaljnji razvoj usmerjen v dodatne vrste/oblike vab, ki bodo razširjale spekter škodljivcev, ki jih je moč učinkovito spremljati ter v dodatne programske rešitve kot je recimo avtomatska prepoznavna dodatnih vrst škodljivcev.

5 LITERATURA

- [1] http://en.wikipedia.org/wiki/World_population (25.3.2013)
- [2] <http://www.fao.org/nr/solaw/main-messages/en/> (25.3.2013)
- [3] http://en.wikipedia.org/wiki/Integrated_pest_management (26.3.2013)
- [4] Special Eurobarometer 354, 2010: 12-15
www.efsa.europa.eu/en/factsheet/docs/sreporten.pdf (27.3.2013)
- [5] Direktiva 2009/128/ES Evropskega parlamenta in sveta
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:309:0071:0086:SL:PDF>
(25.3.2013)

AMERIŠKI ŠKRŽATEK (*Scaphoideus titanus* Ball) V VINORODNI DEŽELI POSAVJE

Karmen RODIČ¹, Andreja PETERLIN², Lucija LESKOVŠEK³, Domen BAJEC⁴

^{1, 2, 4} KGZS – Zavod Novo mesto, Služba za varstvo rastlin, Novo mesto
³ Griže

IZVLEČEK

V letih 2011-12, smo v okviru izvajanja Uredbe o izvedbi ukrepov za preprečevanje širjenja zlate trsne rumenice in zatiranju ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus* Ball) na območju vinorodne dežele Posavje pristopili k podrobnejšemu spremljanju bionomije in učinkovitosti ukrepov zatiranja ameriškega škržatka. Razvoj ameriškega škržatka smo spremljali z vizualnimi pregledi na vinski trti in beleženjem ulova odraslih osebkov na rumene lepljive plošče. Spremljanje je potekalo na lokacijah v žariščih zlate trsne rumenice in izven njih, pri čemer smo zabeležili zastopanost 12 novih vrst škržadov (Cicadidae). Obravnavani so bili vinogradi v ekološki kot integrirani pridelavi. V letu 2011 smo izvajanje ukrepov zatiranja ameriškega škržatka spremljali na 433 in v 2012 na 376 lokacijah. Vrednotenje rezultatov nam je podalo nove ugotovitve glede odzivanja vinogradnikov in nakazalo dolgoročne stranske učinke ukrepov za zatiranje prenašalcev trsnih rumenic. Pridobljene ugotovitve lahko služijo za prihodnje kompleksnejše načrtovanje ukrepov v primeru pojavnosti novih škodljivih organizmov na vinogradniških območjih.

205

Glavne besede: monitoring, ameriški škržatek, zatiranje, zlata trsna rumenica, vinorodna dežela Posavje

ABSTRACT

AMERICAN GRAPEVINE LEAFHOPPER (*Scaphoideus titanus* Ball) IN WINE GROWING REGION POSAVJE

In the period of 2011-12, in the context of Decree on the implementation of measures for the suppression and spread of Grapevine flavescence dorée and suppression of the leafhopper (*Scaphoideus titanus* Ball) in the wine-growing region of Posavje, detailed study of the bionomics and the success of the suppression measures of the American grapevine leafhopper were conducted. Visual checks on the vine leaves for instar developmental stages and yellow sticky plates to monitor adult population were implemented. Monitoring was conducted at locations in the foci of the Grapevine flavescence dorée and delimited area during which 12 new species of cicadas (Cicadidae) were recorded. Vineyards in integrated pest management as well as organic production were observed. In 2011, implementation of measures for the suppression of the American grapevine leafhopper in 433 inspections and in 2012 in 376 inspections was overviewed. Evaluation of results delivers new findings concerning the response of vine growers and indicates the long term side effects of the measures for the control of vectors of grapevine yellows. Acquired findings can serve for future complex planning actions in the event of emergence of new harmful organisms in the vine growing areas.

¹ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, SI-8000 Novo mesto

² dipl. inž. agr. in hort., prav tam

³ dr. agr. znan., Pongrac 83, 3302 Griže

⁴ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, SI-8000 Novo mesto

Key words: monitoring, American grapevine leafhopper, suppression, Grapevine flavescence dorée, Wine growing region Posavje

1 UVOD

Zlata trsna rumenica (Flavescence dorée) na vinski trti se na območju vinorodne dežele Posavja še vedno širi in ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus* Ball) je njen glavni prenašalec. V Sloveniji sta zatiranje ameriškega škržatka in odstranjevanje okuženih trt z zlato trsno rumenico obvezna ukrepa za preprečevanje širjenja zlate trsne rumenice (Ur.l. RS, št. 40, 2011). V letih 2011 in 2012 smo z vizualnimi pregledi vinske trte in beleženjem ulovov odraslih osebkov škržatka na rumene lepljive plošče izvajali spremljanje prenašalčeve bionomije. Hkrati smo izvajali tudi nadzor izvedbe ukrepa zatiranja ameriškega škržatka s pregledi evidenc uporabe fitofarmaceutskih sredstev. Raziskava predstavlja način in rezultate dveletnega spremljanja bionomije in izvedbe ukrepa zatiranja prenašalca.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Spremljanje bionomije ameriškega škržatka

Spremljanje bionomije ameriškega škržatka s sledenjem razvoja smo v obeh letih izvajali na 3 lokacijah:

Leto 2011:	Stražnji vrh, Črnomelj (y: 511.567; x: 5.048.216) Janeževa gorca, Bizeljsko (y: 552.222; x: 5.097.743) Migolska gora, Trebnje
------------	---

Leto 2012:	Stražnji vrh, Črnomelj (y: 511.567; x: 5.048.216) Doblička gora, Črnomelj (y: 511.094; x: 5.046.802) Pleterje, Zdole pri Krškem (y: 541.907; x: 5.092.140)
------------	--

Na območju JV Slovenije smo s pregledi vinske trte začeli v sredini maja. Ličinke (1. in 2. razvojne stopnje) in nimfe (3. do 5. razvojne stopnje) smo iskali in sledili na spodnji strani listov od sredine maja do sredine julija, ko se pojavijo prvi odrasli osebki.

Odrasle osebke smo spremljali s pomočjo rumenih lepljivih plošč (RLP): v letu 2011 na 6 lokacijah integrirane pridelave izven žarišč in v 2012 na razširjenih 9 lokacijah. V 2012 smo v obravnavo vključili tudi vinograde v žariščih in ekološki pridelavi. Rumene lepljive plošče proizvajalca Unichem, velikost 240 × 180 mm, smo namestili v območje olistanega dela trt, na višino 1 do 1,5 m. Priporočeno je bilo nameščanje v senčne dele trsov, kjer se škržatek najraje zadržuje. Na vsako lokacijo smo postavili od 3 do 5 lepljivih plošč.

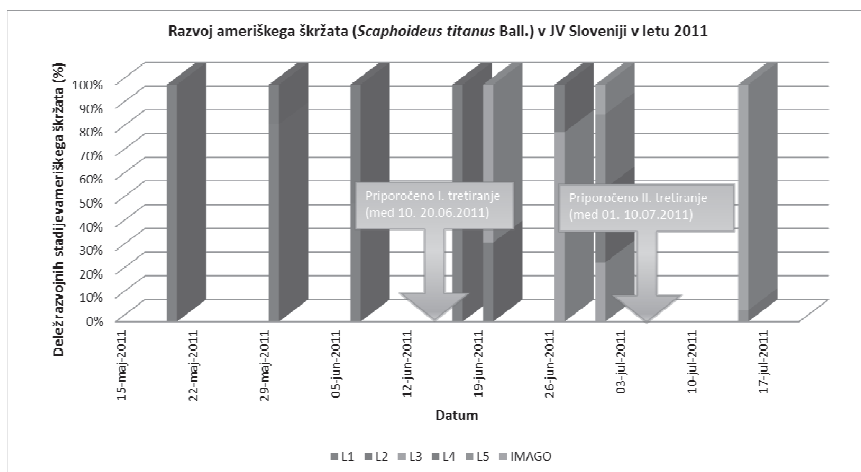
2.2 Nadzor o izvedbi ukrepa zatiranja ameriškega škržatka

Uredba od imetnikov vinogradov v vinorodni deželi Posavje (razmejeno območje) zahteva, obvezno zatiranje ameriškega škržatka, odstranjevanje trt okuženih z zlato trsno rumenico in vodenje evidence o izvedenih ukrepih, zlasti datumu, vrsti in količini fitofarmaceutskega sredstva. Po sklepu izvedenega ukrepa zatiranja ameriškega škržatka smo izvedli nadzor izvedbe ukrepa tretiranja ameriškega škržatka. Pri analizi podatkov smo upoštevali naslednje parametre: št. tretiranih oziroma netretiranih grafičnih enot rabe zemljišč kmetijskega gospodarstva (gerk-ov), uporaba RLP, določitev gostote populacije ameriškega škržatka na podlagi številčnosti ulova odraslih osebkov na RLP, št. izvedenih tretiranj, uporabljeni pripravki. Sledila je končna ocena ali je bil ukrep izveden pravilno, oz. nepravilno.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Rezultati spremljanja začetnih razvojnih stadijev in odraslih osebkov ameriškega škržatka

Zgodnje razvojne stopnje ličinke ameriškega škržatka smo sprva zasledili na listih poganjkov, ki izraščajo iz debla trsa. Pozneje so se ličinke preselile na višje ležeče poganjke v krošnjo trsa. Na rumene lepljive plošče so se ličinke in nimfe ujele zgolj naključno. Ličinke in nimfe ameriškega škržatka smo od morebitnih drugih vrst škržatkov ločevali po izrazito štrlečih ščetinah na zadnjih dveh zadkovih členih in značilnih črnih pegah na bokih predzadnjega člena zadka. Prve izlegle ličinke ameriškega škržatka smo v letu 2011 zabeležili 18. maja na lokaciji Stražnji vrh pri Črnomlju.



Slika 1: Razvoj ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus* Ball.) v JV Sloveniji v letu 2011 s priporočenimi termini za uporabo insekticidov proti začetnim razvojnim stadijem škržatka.

Figure 1: The development of the American grapevine leafhopper (*Scaphoideus titanus* Ball.) in SE Slovenia in the year 2011 with the recommended dates for use of insecticides against instar development stages.

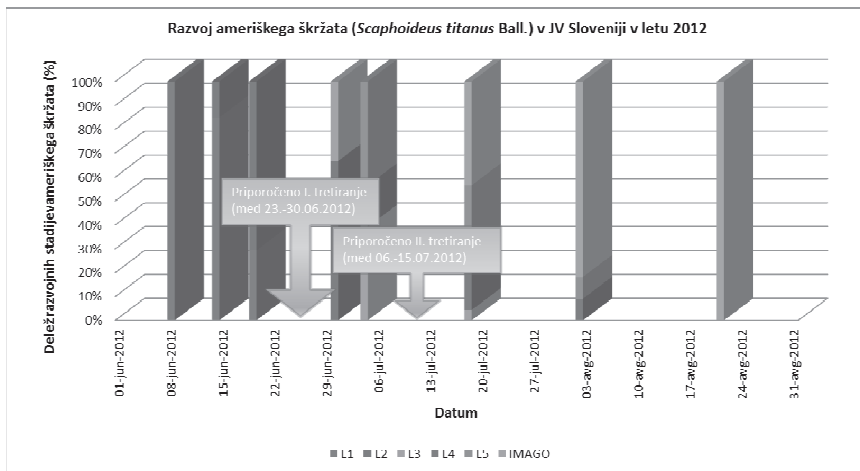
V letu 2012 smo 25. maja na lokaciji Pleterje, Zdole pri Krškem zabeležili pojav ličink razvojnega stadija L1.

Na podlagi prikazanih podatkov izleganja ličink ameriškega škržatka in upoštevanju vremenskih razmer, smo izdajali priporočila za izvedbo tretiranj z insekticidi. Poudarek je na pravočasni izvedbi prvih tretiranj, na zatiranju najboljčutljivejših začetnih razvojnih stadijev ameriškega škržatka.

RLP smo v vinograde namestili 18.05.2011 in 06.06.2012 ter jih nato redno menjavali na 2 do 3 tedne. Spremljanja smo zaključili do 12.10.2011 in 17.10.2012. Prve odrasle osebkve smo na v letu 2011 ulovili 14.07.2011 na lokaciji Stražnji vrh pri Črnomlju. V naslednjem letu se je ulov odraslih osebkov na RLP začel 18.07.2012 na lokacijah Pleterje pri Zdolah ter Doblče in Stražnji vrh.

Na lokacijah, kjer se predvideni insekticidi uporabljajo ustrezno po navodilih (termin plasiranja in odmerki) že več zaporednih let, se je število odraslih ulovljenih škržatkov gibalo med 1 do 3 osebkve na 14 dni. Na spremljanih netretiranih površinah je bilo število ulovljenih osebkov veliko (660 osebkov / 3 RLP / 14 dni). Ulovi so bili sorazmerno veliki tudi v

ekološki pridelavi (približno 90 osebkov / 3 RLP / 14 dni). Glede na rezultate o upadu gostote populacije ameriškega škržatka, je najboljši učinek za zatiranje ameriškega škržatka pokazal pripravke z aktivno snovjo (a.s.) tiametoksam. Da bi uspešno zmanjšali populacijo ameriškega škržatka v ekoloških nasadih, bi bilo priporočljivo pripravke z aktivno snovjo piretrin uporabiti večkrat zaporedoma v krajših tedenskih razmikih.



208

Slika 2: Razvoj ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus* Ball.) v JV Sloveniji v letu 2012 s priporočenimi termini za uporabo insekticidov proti začetnim razvojnim stadijem škržatka.

Figure 2: The development of the American grapevine leafhopper (*Scaphoideus titanus* Ball.) in SE Slovenia in the year 2012 with the recommended dates for use of insecticides against instar development stages.

3.2 Rezultati spremljanja o izvedbi ukrepa zatiranja ameriškega škržatka

V letu 2011 smo nadzor nad izvajanjem ukrepov zatiranja ameriškega škržatka izvedli na 433 in v 2012 na 376 gerk-ih. Od tega je bilo v letu 2011 89% tretiranih in 11% netretiranih gerk-ov. Leto kasneje 2012 se je št. tretiranih gerk-ov povzpelo na 94%. V letu 2011 so bile RLP postavljene na 64% površinah, v letu 2012 na 45%. Razlog v zmanjšanju števila postavljenih plošč vidimo v brezplačnem razdeljevanju materiala v prvem letu nadzora. Hkrati je iz rezultatov razbrati, da na približno 60% gerk-ov škržatka ni.

Na 33% površin je gostota populacije prenašalca majhna, na 5% srednja in na 3% je potrjena velika populacija. Z insekticidom je bilo 23% gerk-ov tretiranih le enkrat. Na 65% površin so aplikacijo insekticida izvedli dvakrat in na 12% trikrat.

Pri tolmačenju rezultatov pa je potrebno biti pozoren še na tri dejavnike:

- izbira in uporaba ustreznega sredstva za varstvo pred ameriškim škržatkom,
- pravilen odmerek sredstva ter
- izvedba aplikacije v ustreznem času.

Ob upoštevanju dodatnih dejavnikov smo ugotovili, da je v letu 2011 le 43% vinogradnikov ukrep izvedlo pravilno. Medtem, ko se je delež nepravilne izvedbe ukrepa v letu 2012 povečal na 68%. Pojasnilo iščemo zlasti v časovno neprimerno plasiranjem tretiranju z insekticidi.

Obravnavali smo tudi nabor fitofarmaceutskih sredstev uporabljenih za zatiranje ameriškega škržatka. Upoštevali smo uporabo posameznih, kakor tudi različne kombinacije insekticidov. Primerno je varstvo svoj vinograd 70% vinogradnikov z uporabo sredstva Actara 25 WG ali z uporabo Actare 25 WG za prvo in sredstva Reldan 22 EC za drugo tretiranje. Pripravek Decis

2,5 EC zaradi okoljskih razmer (izredno visoke temperature in hiter fenološki razvoj vinske trte) ni bil primeren za uporabo in ga tudi nismo priporočali.

3.3 Nove vrste škržadov (Cicadidae)

V letu 2009 smo poročali o določitvi 50 vrst škržatov (Cicadidae) na območju JV Slovenije (Rodič in sod., 2009), temu podatku smo v letu 2011 pri pregledu RLP dodali še 12 novih vrst, ki jih je določil mag. Gabrijel Seljak (Entomološki laboratorij, KGZS – Zavod Nova Gorica): *Allygus modestus*, *Anoplotettix fuscovenosus* (Ferrari), *Aphrodes makarovi*, *Dictyophora europaea*, *Eupteryx atropunctata* (Goeze), *Idiocerus herrichii* (Kirschbaum), *Japananus hyalinus* (Osborn), *Megophthalmus scanicus* (Fallén), *Platymetopius major* (Kirschbaum), *Reptalus cuspidatus* (Fieber), *Stenidiocerus poecilus* (Herrich-Schäffer), *Thamnotettix dilutior* (Kirschbaum).

4 SKLEPI

Na hitrost razvoja ameriškega škržatka močno vplivajo vremenske razmere, predvsem temperatura. Te razmere so tudi ključni dejavnik pri napovedovanju ustreznega termina za uporabo insekticidov proti ameriškemu škržatku.

Obseg zatiranja ameriškega škržatka narašča; iz 89% v 2011, do 94% tretiranih površin v letu 2012.

Obseg nadzora nad ameriškim škržatkom v vinogradih upada. Število postavljenih rumenih lepljivih plošč se je v letu 2012 zmanjšalo.

Na večini (65%) gerk-ov je bil insekticid uporabljen vsaj dvakrat. Najpogosteje uporabljen pripravek je bil Actara 25 WG.

Število pravilno izvedenih ukrepov se je v letu 2012 povečalo, iz 43% na 68%.

Na območju JV Slovenije smo med nadzorom potrdili 12 novih vrst škržadov.

5 LITERATURA

- Bajec, D. 2011. Poročilo o aktivnostih opravljenih po programu izvedbe ukrepov za preprečevanje širjenja zlate trsne rumenice in zatiranje ameriškega škržatka. Novo mesto, KGZS – Zavod NM, Služba za varstvo rastlin.
- Lessio, F., Albertin, I., Lombardo, D. M., Gotta, P., Alma, A. 2011. Monitoring *Scaphoideus titanus* for IPM purposes: results of a pilot-project in Piedmont (NW Italy). Bulletin of Insectology, 64: 269-270
- Nicoli Aldini, R., Ciampitti, M. and Cravedi, P. 2003. Monitoring the leafhopper *Scaphoideus titanus* Ball and the planthopper *Hyalesthes obsoletus* Signoret in Northern Italy. Integrated Protection and Production in Viticulture IOBC/wprs Bulletin Vol. 26 (8) 2003: 233-236.
- Rak Cizej, M. Ferlež Rus A., Persolja J., Radišek S. 2011. Preučevanje bionomije ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus* Ball). Zbornik predavanj in referatov 10. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Podčetrtek, 1.-2. marec 2011. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2011: 133-138.
- Rodič, K., Seljak, G., Peterlin, A., Bajec, D., Tomše, S. 2009. Škržatki, ulovljeni v vinogradih JV Slovenije v letih 2007 in 2008. Zbornik predavanj in referatov 9. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Nova Gorica, 4.-5. marec 2009. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2009: 293-298.
- Uredba o izvedbi ukrepov za preprečevanje širjenja zlate trsne rumenice in zatiranju ameriškega škržatka. 2011. Uradni list Republike Slovenije; 40/2011: 5342-5344.

IZKUŠNJE Z ZATIRANJEM AMERIŠKEGA ŠKRŽATKA (*Scaphoideus titanus* Ball) V OBDOBJU 2008-2012 V SEVEROVZHODNI SLOVENIJI

Boštjan MATKO¹, Jože MIKLAVC², Miro MEŠL³

^{1,2,3} KGZS – Zavod Maribor, Oddelek za varstvo rastlin, Maribor

IZVLEČEK

V prispevku prikazujemo rezultate petletnih preizkušanj nekaterih insekticidov za zatiranje ameriškega škržatka v severovzhodnem delu Slovenije. V poskusih smo preizkušali učinkovitost delovanja insekticidov za zatiranja ameriškega škržatka z enim oz. dvema škropljenjema v dveh različnih terminih (prvi termin je bil po končanem cvetenju vinske trte, drugi termin pa v času zatiranja grozdnih sukačev 2. rodu), uporabljeni so bili naslednji insekticidi: Actara 25 WG, Decis 2,5 EC, Kenyatox verde, Pyrinex 25 CS, Reldan 22 EC in Steward. Najvišjo učinkovitost so pokazali postopki, pri katerih je bil vključen insekticid Actara 25 WG in Reldan 22 EC.

Ključne besede: ameriški škržatek, insekticidi, vinska trta

ABSTRACT

EXPERIENCES WITH CONTROLLING AMERICAN GRAPEVINE LEAFHOPPER (*Scaphoideus titanus* Ball) IN NORTHEASTERN SLOVENIA IN THE PERIOD 2008-2012

In the article we present the five-year results of testing some insecticides against American grapevine leafhopper in northeastern part of Slovenia. In trials we are testing efficacy of insecticides against American grapevine leafhopper with one or two sprayings in two different times of spraying (first was after flowering of grape vine and second was in the time of control against second generation of European Grapevine Moth and Vine Moth). In the trials were used insecticides Actara 25 WG, Decis 2,5 EC, Kenyatox verde, Pyrinex 25 CS, Reldan 22 EC and Steward. The highest efficacy was shown by variants with insecticides Actara 25 WG and Reldan 22 EC.

Key words: American grapevine leafhopper, insecticides, grape vine

1 UVOD

Ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus* Ball) je glavni prenašalec zlate trsne rumenice na vinski trti, ki jo povzroča karantenska fitoplazma Grapevine Flavescence dorée (FD). Zlata trsna rumenica je bila v Sloveniji prvič najdena in dokazana leta 2005 v okolici Kopra, v letu 2008 prvič na Dolenjskem, v letu 2009 pa prvič na območju severovzhodne Slovenije (Štajerska in Prekmurje). Ameriški škržatek je bil v Evropi prvič najden v Franciji v 50. letih (Bonfils in Schvester, 1960), v Francijo naj bi bil prenesen s sadilnim materialom (na katerem so bila odložena jajčeca ameriškega škržatka) iz Amerike. Prvič je bil ameriški škržatek v Sloveniji najden leta 1983 v zahodnem delu Slovenije (primorski del Slovenije), v letu 2003 pa tudi v severovzhodnem delu Slovenije – Maribor in Sebeborci (Seljak, 2008), sedaj pa ga lahko najdemo v vseh vinorodnih deželah Slovenije. Ameriški škržatek ima v Sloveniji en rod

¹ univ. dipl. inž. agr., Vinarska 14, SI-2000 Maribor

² mag. agr. znan., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

na leto, prezimi v stadiju jajčeca na dvo- in triletnem lesu trte, živi pa predvsem na trt. Gostiteljske rastline ameriškega škržatka so rastline iz rodu *Vitis sp.*, glavna gostiteljska rastlina je »žlahtna« vinska trta (*Vitis vinifera* L.), po novejših raziskavah pa sta kot potencialni gostiteljski rastlini omenjeni plazeča detelja (*Trifolium repens* L.) in plazeča zlatica (*Ranunculus repens* L.) (Jermnini, 2011). Ugotavljanje številčnosti populacije ličink ameriškega škržatka je mogoče s pregledovanjem spodnje ploskve listov vinske trte (nižji razvojni stadiji se nahajajo na najnižjih listih – najbližje tlem), zastopanost odraslih škržatkov (imagov) pa je mogoče spremljati z rumenimi lepljivimi ploščami. Spremljanje in zatiranje ameriškega škržatka je sedaj obvezen ukrep v vseh razmejenih in ogroženih območjih zlate trsne rumenice ter v pridelavi razmnoževalnega oz. sadilnega materiala v Sloveniji, saj je to edini učinkoviti ukrep preprečevanja hitrega in nenadzorovanega širjenja zlate trsne rumenice (FD).

Namen preizkušanja insekticidov za zatiranje ameriškega škržatka je bil ugotoviti, kateri insekticidi so najbolj ustrezni in učinkoviti za uspešno zmanjševanje populacije ameriškega škržatka. S poskusi smo tudi želeli ugotoviti, kateri insekticidi najbolj ustrezajo za zatiranje nižjih razvojnih stadijev (ličink) in kateri za zatiranje odraslih osebkov (imagov) ameriškega škržatka.

2 MATERIAL IN METODE

V letih 2008 do 2012 smo poskuse izvajali v treh različnih vinogradih severovzhodne Slovenije (2008 in 2012 – Nebova pri Malečniku, 2010 – »Mestni hrib« nad Mariborom, 2011 – »pod Kalvarijo« v Mariboru), poskus pa je bil vedno zasnovan kot bločni poskus v štirih ponovitvah. Škropljenja so bila opravljena s traktorskim nošenim pršilnikom (prirejen za izvajanje škropljenih poskusov), povprečna poraba škroplilne brozge je bila v vseh letih 700 L/ha, uporabljali smo šobe tipa ALBUZ (ATR rumena), delovni tlak pa je bil 10 bar-ov.

V letu 2008 je bilo škropljenje s preizkušanimi insekticidi izvedeno v času zatiranja grozdnih sukačev drugega rodu (2. in 17. julij) saj smo želeli ugotoviti, ali škropljenje v tem obdobju vpliva dovolj uspešno na zmanjšanje populacije ameriškega škržatka. V preizkušanje sta bila vključena dva postopka, prvi z dvema različnima insekticidoma v dveh različnih terminih škropljenj – Steward (2.7.) in Reldan 22 EC (17.7.), drugi le z enim – Reldan 22 EC (17.7.) (preglednica 1).

Preglednica 1: Uporabljeni insekticidi, odmerki in datumi škropljenj v letu 2008 (Nebova pri Malečniku)
Table 1: Used insecticides, concentrations and dates of spraying in year 2008 (Nebova near Malečnik)

Št. obr.	Pripravek	Aktivna snov	Formul.	Odmerek (kg, l pripr./ha)	Datum škropljenja	Fenološka faza vinske trte (BBCH)
1.	Steward	indoksakarb	WG	0,15	2. julij (I)	73
	Reldan 22 EC	klorpirifos metil	EC	1,0	17. julij (II)	75-77
2.	Reldan 22 EC	klorpirifos metil	EC	1,0	17. julij (II)	75-77
3.	Kontrola – neškropljeno					

V letu 2010 so bili v dveh različnih terminih škropljenj (24. in 28. 6.) v poskus vključeni trije različni insekticidi – Actara 25 WG, Reldan 22 EC in Steward (preglednica 2) in sicer v

obdobju, ko so bile prisotne ličinke ameriškega škržatka prvega, drugega in tretjega razvojnega stadija (L₁, L₂ in L₃).

Preglednica 2: Uporabljeni insekticidi, odmerki in datumi škropljenj v letu 2010 (»Mestni hrib« nad Mariborom)

Table 2: Used insecticides, concentrations and dates of spraying in year 2010 (»Mestni hrib« near Maribor)

Št. obr.	Pripravek	Aktivna snov	Formul.	Odmerek (kg, l priprav./ha)	Datum škropljenja	Fenološka faza vinske trte (BBCH)
1.	Actara 25 WG	tiametoksam	WG	0,2	24. junij	73
2.	Reldan 22 EC	klorpirifos metil	EC	1,0	28. junij	73
3.	Steward	indoksakarb	WG	0,15	28. junij	73
4.	Kontrola – neškropljeno					

V letu 2011 smo preizkušali učinkovitost treh različnih insekticidov (Steward, Kenyatox verde in Actara 25 WG), škropljenje pa je bilo opravljeno po končanem cvetenju vinske trte – 17. junij (preglednica 3). V tem obdobju so prevladovali ličinke ameriškega škržatka drugega in tretjega razvojnega stadija (L₂ in L₃).

212

Preglednica 3: Uporabljeni insekticidi, odmerki in datumi škropljenj v letu 2011 (»pod Kalvarijo« v Mariboru)

Table 3: Used insecticides, concentrations and dates of spraying in year 2011 (»pod Kalvarijo« in Maribor)

Št. obr.	Pripravek	Aktivna snov	Formul.	Odmerek (kg, l priprav./ha)	Datum škropljenja	Fenološka faza vinske trte (BBCH)
1.	Steward	indoksakarb	WG	0,15	17. junij	69
2.	Kenyatox verde	piretrin	EC	0,8	17. junij	69
3.	Actara 25 WG	tiametoksam	WG	0,2	17. junij	69
4.	Kontrola - neškropljeno					

V letu 2012 so bili v poskus vključeni trije različni insekticidi (Pyrinex 25 CS, Actara 25 WG in Reldan 22 EC), škropljenje pa je bilo izvedeno po končanem cvetenju vinske trte - 20. junij (preglednica 4); v času škropljenja so prevladovali ličinke ameriškega škržatka drugega razvojnega stadija (L₂), prisotne so še bile tudi ličinke prvega in tretjega razvojnega stadija (L₁ in L₃).

Preglednica 4: Uporabljeni insekticidi, odmerki in datumi škropljenj v letu 2012 (Nebova pri Malečniku)
Table 4: Used insecticides, concentrations and dates of spraying in year 2012 (Nebova near Malečnik)

Št. obr.	Pripravek	Aktivna snov	Formul.	Odmerek (kg, l priprav./ha)	Datum škropljenja	Fenološka faza vinske trte (BBCH)
1.	Pyrinex 25 CS	klorpirifos	CS	1,0	20. junij	69
2.	Actara 25 WG	tiametoksam	WG	0,2	20. junij	69
3.	Reldan 22 EC	klorpirifos metil	EC	1,0	20. junij	69
4.	Kontrola - neškropljeno					

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V letu 2008 smo učinkovitost delovanja preizkušanih insekticidov ugotavljali na podlagi ulovov odraslih osebkov (imagov) ameriškega škržatka na rumenih lepljivih ploščah v petih različnih terminih (1. in 26. avgust ter 8., 15. in 23. september). Na podlagi rezultatov v letu 2008 se je kot najbolj ustrezen in učinkovit pokazal postopek 2, pri katerem smo uporabili pripravek Reldan 22 EC v času zatiranja drugega rodu grozdnih sukačev (17.7.). Velik vpliv na rezultate, predvsem pri postopku 1 (Steward I, Reldan 22 EC II), je imela majhna populacija škržatkov v vinogradu ter »migriranje« škržatkov iz parcelice v druge parcelice zaradi atraktivnosti rumenih lepljivih plošč. Rezultate preizkušanja insekticidov v letu 2008 prikazujemo v preglednici 5.

Preglednica 5: Rezultati preizkušanja insekticidov v letu 2008
Table 5: Results of insecticides testing in year 2008

Št. obr., pripravek	Število odraslih osebkov ameriškega škržatka na eno rumeno lepljivo ploščo				
	1.8.	26.8.	8.9.	15.9.	23.9.
1. Steward (I. škrop - 2.7.) Reldan 22 EC (II. škrop.- 17.7.)	3,5	10,5	19,8	5,0	0
2. Reldan 22 EC (II. škrop.- 17.7.)	5,5	6,5	7,0	3,5	0
3. Kontrola - neškropljeno	7,0	10,8	12,5	6,5	0,8

V letu 2010 sta najboljšo učinkovitost, ko so v času škropljenja prevladovali ličinke ameriškega škržatka, pokazala pripravki Actara 25 WG in Reldan 22 EC. Pri drugem (2.7.) in tretjem (8.7.) pregledu listov se je število ličink ameriškega škržatka zelo zmanjšalo, kar je posledica »migracije« in pojava prvih odraslih škržatkov v času tretje ocenitve. Rezultate preizkušanja insekticidov v letu 2010 prikazujemo v preglednici 6.

V letu 2011 je bil najbolj učinkovit pripravek Actara 25 WG, učinkovitost pri ostalih dveh pripravkih pa je bila prenizka za učinkovito zmanjšanje populacije ameriškega škržatka (preglednica 7).

Preglednica 6: Rezultati preizkušanja insekticidov v letu 2010
Table 6: Results of insecticides testing in year 2010

Št. obr., pripravek	Število ličink na 100 pregledanih listov (100 pregledanih listov/ponovitev)					
	26. junij		2. julij		8. julij	
	povpr. št.	učink. (%)	povpr. št.	učink. (%)	povpr. št.	učink. (%)
1. Actara 25 WG	6,5	93,13	0,25	95,65	0,25	93,75
2. Reldan 22 EC	-	-	0	100	0	100
3. Steward	-	-	0,75	86,95	0,5	87,5
4. Kontrola – neškropljeno	94,75	-	5,75	-	4,0	-

Preglednica 7: Rezultati preizkušanja insekticidov v letu 2011
Table 7: Results of insecticides testing in year 2011

Št. obr.	Pripravek	Število ličink na 75 pregledanih listov (75 pregledanih listov/ponovitev)							
		20. junij		27. junij		4. julij		12. julij	
		povpr.	učink. (%)	povpr.	učink. (%)	povpr.	učink. (%)	povpr.	učink. (%)
1.	Steward	32,33	30,6	21	3,08	12,6	38,8	20,3	40,1
2.	Actara 25 WG	0,3	99,2	0	100	0	100	0	100
3.	Kenyatox verde	-	-	16,3	24,4	10,0	51,4	13,3	60,78
4.	Kontrola neškropljeno	46,6	-	21,66	-	20,6	-	34,0	-

214

Vsi preizkušani pripravki v letu 2012 so dosegli visoke učinkovitosti ob vseh kontrolah (22.6., 27.6. in 5.7.), zato na podlagi teh rezultatov ustrezajo za uspešno zmanjševanje populacije ameriškega škržatka v tem obdobju uporabe (škropljenje po končanem cvetenju vinske trte). Rezultate prikazujemo v preglednici 8.

Preglednica 8: Rezultati preizkušanja insekticidov v letu 2012
Table 8: Results of insecticides testing in year 2012

Št. obr.	Pripravek	Število ličink na 100 pregledanih listov (100 pregledanih listov/ponovitev)							
		20. junij		22. junij		27. junij		5. julij	
		povpr.	učink. (%)	povpr.	učink. (%)	povpr.	učink. (%)	povpr.	učink. (%)
1.	Pyrinex 25 CS	-	-	1,75	93,6	0,5	97,2	0	100
2.	Actara 25 WG	-	-	0	100	0	100	0	100
3.	Reldan 22 EC	-	-	0,75	97,2	0	100	0	100
4.	Kontrola - neškropljeno	28,25	-	27,25	-	18,0	-	14,0	-

4 SKLEPI

- za prvo škropljenje proti ameriškemu škržatku na podlagi večletnih poskusov, po končanem cvetenju vinske trte in v času ko prevladujejo ličinke L₂ razvojnega stadija, najbolj ustreza pripravek ACTARA 25 WG;
- za drugo škropljenje, ko so že tudi zastopani imagi ameriškega škržatka, pa sta na podlagi poskusov najbolj ustrezna in učinkovita pripravka RELDAN 22 EC in PYRINEX 25 CS (ker delujeta tudi zelo dobro proti grozdnim sukačem);
- v primeru, da še je potrebno opraviti tretje – dodatno škropljenje proti ameriškemu škržatku, (na podlagi preseženega pragu ulovov na rumenih lepljivih ploščah ob koncu meseca julija), se v tem času priporoča uporaba pripravka ACTARA 25 WG, ki prav tako zelo dobro deluje na odrasle osebkke ameriškega škržatka;
- učinkovitost delovanja pripravka STEWARD je na podlagi poskusov prenizka zato odsvetujemo njegovo uporabo za namen zatiranja ameriškega škržatka;

5 LITERATURA

- Bonfils, Schvester, 1960. The leafhoppers (Homoptera - Auchenorrhynchas) and their relationship with vineyards in south-western France. *Annales des Epiphyties*, 11 (3): 325-336.
- FITO-INFO, Informacijski sistem za varstvo rastlin, 2013. <http://www.fito-info.si/>
- Jermini, 2011: Übertragungen der Goldgelben Vergilbung nicht nur auf Reben. *Schweizerischer Zeitschrift für Obst- und Weinbau*, 1, p. 16.
- Matko, B. Miklavc, J. Mešl, M. 2013. Izkušnje z zatiranjem ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus* Ball) v obdobju 2008-2012 v severovzhodni Sloveniji. Izvlečki referatov 11. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo (in okrogla miza o zmanjšanju tveganja zaradi rabe FFS v okviru projekta CropSustaln), Bled 2013. Društvo za varstvo rastlin Slovenije, Ljubljana, 2013: 79-80.
- Miklavc, J. Mešl, M. Matko, B. Poročilo o biološkem preizkušanju v letu 2008 za insekticide proti ameriškemu škržatku (*Scaphoideus titanus* Ball). KGZS – Zavod Maribor, 2008.
- Miklavc, J. Mešl, M. Matko, B. Poročilo o biološkem preizkušanju v letu 2010 za insekticide proti ameriškemu škržatku (*Scaphoideus titanus* Ball). KGZS – Zavod Maribor, 2010.
- Miklavc, J. Mešl, M. Matko, B. Poročilo o biološkem preizkušanju v letu 2011 za insekticide proti ameriškemu škržatku (*Scaphoideus titanus* Ball). KGZS – Zavod Maribor, 2011.
- Miklavc, J. Mešl, M. Matko, B. Poročilo o biološkem preizkušanju v letu 2012 za insekticide proti ameriškemu škržatku (*Scaphoideus titanus* Ball). KGZS – Zavod Maribor, 2012.
- Püntener, W. 1981. *Manual für Feldversuche im Pflanzenschutz*. Zweite, überarbeitete und ergänzte Auflage. Ciba – Geigy AG, Basel, Schweiz
- 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.

UVAJANJE METODE DALJINSKEGA ZAZNAVANJA PRI NADZORU ZLATE TRSNE RUMENICE (*Flavescence dorée*)

Matej KNAPIČ¹, Rok RUTAR², Uroš ŽIBRAT³

^{1,3}Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana
²Kaliopa d.o.o., Ljubljana

IZVLEČEK

Zlato trsno rumenico (*Grapevine Flavescence dorée*) povzročča karantenska fitoplazma '*Ca. Phytoplasma vitis*', ki se v slovenskem prostoru vztrajno širi in se v različnem obsegu pojavlja že v vseh treh vinorodnih deželah. Zaradi obsežnega terenskega dela in s ciljem, da terensko delo postane bolj usmerjeno, smo avgusta in septembra 2011 naročili satelitsko snemanje celotnega razmejenega območja na Primorskem ter del razmejenega območja na Dolenjskem. Snemanje je bilo opravljeno s satelitom WorldView 2, za katerega je značilna visoka prostorska in spektralna ločljivost, ki omogoča podrobnejšo ločevanje objektov na zemeljski površini. V prispevku so predstavljeni prvi rezultati analize satelitskih podob na omejenem nizu podatkov iz vinogradov žarišča Viližan pri Izoli, kjer smo v času snemanja v nekaterih vinogradih žarišča popisali izraženost bolezenskih znamenj na posameznih rastlinah vinograda. Z analizo satelitskih podob smo na temelju različnega odboja elektromagnetnega valovanja določili vinogradniško rabo, vrstni prostor vinograda, kot tudi potencialno okuženost rastlin. Ustrezen algoritem za ločevanje zdravih trt od trt z bolezenskimi znamenji gradimo z uporabo indeksov, ki predstavljajo različna razmerja med odbojem posameznih valovnih dolžin. Primernost indeksov za vključitev v algoritem smo v prvi fazi statistično ovrednotili z analizo variance (ANOVO). Pri določenih indeksih smo ugotovili statistično značilne razlike med skupinami rastlin z bolezenskimi znamenji. Uporabnost indeksov smo ilustrirali s podrobnejšim prikazom dveh indeksov, kjer med povprečji indeksa posameznih skupin rastlin obstajajo statistično značilne razlike ($p < 0,001$). Samostojno indeksa ne uspeta zadovoljivo ločiti posameznih skupin rastlin. Kot člena algoritma, skupaj v kombinaciji z nekaterimi ostalimi indeksi, prispevata k razmejitvi rastlin s približno 70% natančnostjo. V nadaljnje analize vključujemo nove metode, kot je strojne učenje oziroma rudarjenje s podatki.

Ključne besede: daljinsko zaznavanje, detekcija boleznih rastlin, vinograd, trsna rumenica, *Flavescence dorée*

ABSTRACT

APPLICATION OF REMOTE SENSING IN GRAPEVINE YELLOWS (*Grapevine Flavescence dorée*) CONTROL

Grapevine Flavescence dorée yellows is caused by quarantine phytoplasma '*Ca. Phytoplasma vitis*', is steadily spreading in Slovenian vineyards, and is occurring in all three wine regions in varying degrees. In order to carry out more focused field work, and due to its extensiveness, satellite images of the entire demarcated area in Primorska region and part

¹ univ. dipl. inž. agr., Hacquetova 17, SI-1001 Ljubljana

² univ. dipl. inž. geod, Letališka cesta 32J, SI-1000 Ljubljana

³ dr., Hacquetova 17, SI-1001 Ljubljana

of the demarcated area in Dolenjska region, were acquired in August and September 2012. Recordings were made by the satellite WorldView 2, which's high spatial and spectral resolution enables object distinction on earth's surface. First results of analyses performed on a limited dataset are presented. At the time of satellite recording, vine plants in the vineyards under study were attributed depending on visible signs of disease. Based on unique electromagnetic reflections from the objects we separated ground, vineyard row space and potentially infected plants. To identify potentially diseased plants we used several indices, calculated from reflections at different wavelengths. The suitability of each index was tested with a one-way analysis of variance (ANOVA). Statistically significant differences between healthy and plants with different disease signs were found in certain indices. The applicability of these indices was illustrated in more detail for two of them, both with statistically significant differences between healthy and diseased plants ($p < 0,001$). Individually indexes were not capable to differentiate plants with different disease signs in a useful manner. However, using an algorithm that combines several indices, overall accuracy reached approximately 70%. In future analyses we plan to employ new methods, such as machine learning.

Key words: remote sensing, detection of plant disease, vineyard, Grapevine yellows, Flavescence dorée

1 UVOD

217

Fitoplazma '*Ca. Phytoplasma vitis*' povzroča karantensko bolezen vinske trte, imenovano zlata trsna rumenica. Od leta 2005 se pojavlja tudi v slovenskih vinogradih, kjer se pridružuje že dalj časa zastopani in razširjeni navadni trsni rumenici - Bois noir, ki jo povzroča '*Ca. Phytoplasma solani*'. Znamenja obeh bolezní so na vinski trti zelo podobna, zato jih vizualno ni mogoče ločiti, pač pa prihod karantenske bolezní nakazujeta nenaden pojav rumenice in hitro širjenje v žarišču ob veliki populaciji vektorja (ameriški škržatek *Scaphoideus titanus* Ball), ki lahko ob opustitvi ukrepov zajame celotne vinograde v dveh do štirih letih (Mehle in sod., 2011).

Obvladovanje in omejevanje širjenja bolezní temelji na zgodnjem odkrivanju in odstranjevanju obolelih rastlin, zatiranju vektorja in uporabi zdravega razmnoževalnega materiala za nove nasade (Načrt ukrepov, 2011). Ti ukrepi vključujejo tudi obsežno terensko delo. Pregledovanje vinogradov je v sklopu posebnega nadzora trsnih rumenic osredinjeno na območje že odkritih žarišč in v nekoliko manjšem obsegu na varnostna območja v okolici žarišč. Tovrsten nadzor je s povečevanjem števila žarišč zelo težko obvladovati, saj je število vključenih ljudi omejeno in terenski pregledi potekajo v poletnem času, ko se razpoložljivost zaposlenih še zmanjša.

Veliko pomoč pri odkrivanju novih žarišč zlate trsne rumenice bi lahko predstavljale analize večspektralnih posnetkov vinorodnih območij. Obolela vinska trta kaže značilno spremembo obarvanja zelenih listov: rumenenje pri belih sortah in rdečenje pri rdečih sortah grozdja. Z daljinskim zaznavanjem odkrite spremembe barve v vinogradih, ki so bili na posnetkih preteklih let še videti zdravi, bi tako pripomogle k bolj usmerjenem terenskem pregledovanju vinogradov in s tem k večji učinkovitosti obvladovanja.

Večspektralne posnetke večjega območja lahko pridobimo s satelitskim snemanjem, redkeje tudi s snemanjem z letalom. Obstajajo različni visokoločljivostni večspektralni satelitski sistemi, ki snemajo zemeljsko površje. Večina teh sistemov, kot so Quickbird, Ikonos in GeosEye-1, beleži odboj svetlobe, to je elektromagnetnega valovanja, v štirih območjih valovne dolžine: rdečem, zelenem in modrem delu vidnega (oz. pankromatskega) dela spektra ter v bližnjem infra rdečem delu. Le senzorji satelita Worldview 2 beležijo odboj elektromagnetnega valovanja v 8 delih spektra (imenovanih kanali) ob ustrezni visoki

prostorski ločljivosti. Omenjenim osnovnim štirim kanalom so v sistemu Worldview 2 dodali še kanale obalno modre, rumene, robno rdeče ter dodatnega bližnje infra rdeče.

Prostorska ločljivost posnetkov v nadiru je 0,5 m v pankromatskem delu – kjer je v črno belem posnetku vrednost odboja za celotno območje podana z eno povprečno vrednostjo odboja - ter 1,85 oziroma 2 m v večspektralnem delu. Prostorska ločljivost pomeni najmanjšo velikost rastrske celice posnetka. Za območje 2 m x 2 m zemeljske površine torej dobimo v večspektralnem delu posnetka 8 vrednosti odboja v posameznih območjih spektra. Z večjim številom kanalov je sistem zelo veliko pridobil na uporabnosti posnetkov tudi za namene odkrivanja rastlinskih boleznih ter drugih stresnih dejavnikov rastlin. Za ugotavljanje bolezenskih stanj in stresnih pogojev rastlin sta še posebno uporabna robni rdeči (705 – 745 nm) ter rumeni kanal (585-625 nm) (Vogelmann in sod., 1993; Jones in Vaughan, 2010).

Analiza satelitskih posnetkov temelji na dejstvu, da vsak objekt na zemeljski površini na svojstven način vpija, prepušča oziroma odbija svetlobo in to različno po posameznih območjih valovne dolžine (Oštir, 2006). To ne omogoča le ločevanja med izrazito različnimi skupinami objektov, kot so travniki, njive, ceste, stavbe, itd., ampak tudi znotraj iste skupine objektov, v našem primeru denimo rastline z bolezenskimi znamenji (značilno rumeno ali rdeče obarvani listi) od zdravih rastlin (zeleni listi). Zato je ugotavljanje navzočnosti fitoplazme zlate trsne rumenice z analizo satelitskih posnetkov primerna izbira.

2 METODE DELA

Snemanje območja na Primorskem, kjer smo posneli celotno uradno razmejeno območje, je bilo opravljeno 11. avgusta 2011. Posnetek oziroma sliko območja smo najprej položajno in reliefno korigirali (georeferencialni ter ortorektificirali). Nato smo s posebnim orodjem v okviru programske opreme Erdas Imagine 2011 večspektralni del posnetka ustrezno izostrili s podatki pankromatskega dela posnetka. Na ta način smo povečali prostorsko resolucijo večspektralnega dela posnetka na 0,5 m. Pri nadaljnji analizi posnetka smo za obravnavane vinograde želeli vključiti le vrstni prostor vinogradov. Razmejitev vrstnega prostora od medvrstnega prostora vinogradov smo uspešno naredili z uporabo obalno modrega kanala (400-450 nm), vrednosti odboja višje od 0,285 smo upoštevali kot medvrstni prostor.

V časovnem terminu snemanja smo opravili podrobno mapiranje oziroma popis trt in bolezenskih znamenj v nekaterih vinogradih žarišča Viližan, kjer je bila bolezen zastopana že nekaj let pred odkritjem. V izbranih vinogradih smo ocenili izraženost bolezenskih znamenj. Okrajšave izraženosti bolezenskih znamenj so N - znamenj ni, M – znamenja so malo vidna; kar pomeni, da sta bila na tri prisotna le poganjek ali dva z znamenji boleznih ter manj kot 5 polno razvitih listov s spremenjeno barvo, S – bolezenska znamenja so srednje močno izražena; znamenja boleznih so vidna na več poganjkih in spremenjena barva na več kot 5-ih polno razvitih listih ter V- znamenja so vidna v pretežnem delu trte in močno izražena. Na ta način smo pridobili referenčne točke, pri katerih smo lahko ugotavljali, kako se odražajo bolezenska znamenja na vrednostih odboja v posameznem spektralnem kanalu.

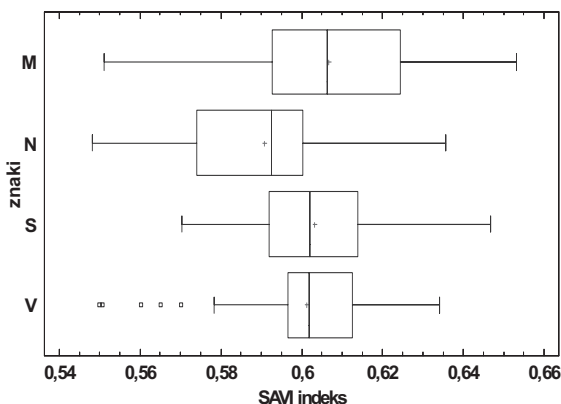
Pri analizah satelitskih posnetkov praviloma uporabljamo indekse, ki so razmerja med posameznimi kanali. Eden bolj znanih indeksov, ki se uporabljajo v raziskavah vegetacije, je indeks NDVI (vegetacijski indeks normaliziranih razlik), ki predstavlja količnik med razliko kanalov bližnje infra rdečega (NIR) in rdečega kanala ter njuno vsoto. Nižje vrednosti NIR kanala pomenijo manjšo vsebnost vode v rastlinah, medtem ko so večje vrednosti rdečega kanala odraz manjše fotosintetske aktivnosti. NDVI indeks zato v določeni meri odraža vitalnost vegetacije (Jones in Vaughan, 2010). V naši analizi smo poleg NDVI indeksa uporabili še 30 ostalih, ki naj bi ponazarjali različna stanja v vegetaciji in so odraz razmerij med posameznimi kanali. Nekateri od teh indeksov so nastali na podlagi analiz hiperspektralnih posnetkov, t.j. posnetkov, ki imajo zvezne vrednosti odboja v celotnem območju in ne le eno povprečno vrednost za posamezen del spektra, in smo jih za naše potrebe priredili na strukturo naših spektralnih podatkov. Kot predpogoj za izračun indeksov

smo za posamezno vrsto v vinogradu izvozili vse podatke, vključno s prostorskima koordinatama x in y in jih v nadaljevanju za posamezno trto uvrstili v razrede izraženosti bolezenskih znakov ter izračunali omenjene indekse. Statistično analizo podatkov (indeksov) smo opravili s programsko opremo Statgraphics Centurion XVI. Razlike med razredi smo preverjali z analizo variance (ANOVA). Statistične značilne razlike med obravnavanji smo v drugem koraku preverjali z analizo mnogoterih primerjav z Duncan-ovim testom.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

Absolutne vrednosti odboja se zaradi različnih pogojev snemanja kot tudi lege objektov, lahko močno razlikujejo, zato v analizah posnetkov v večji meri uporabljamo indekse. Izmed 30 izračunanih indeksov smo s statistično analizo potrdili, da določeni kažejo potencial za ločevanje okuženih rastlin od zdravih. Od standardnega nabora indeksov kažeta potencial indeksa NDVI in SAVI (prilagojen NDVI indeks glede na vpliv tal pri odboju svetlobe - ang. Soil-Adjusted Vegetation Index) (Huete, 1988). SAVI indeks z uporabo faktorja $L=0,25$ je razlike med povprečji rastlin brez vidnih znakov in rastlin z izrazitejšimi znaki okužbe, bolj jasno razmejil kot indeks NDVI. Iz slike 1 je razvidno, da so sicer povprečja in mediane med skupinami rastlin dobro razmejena, vendar se podatki še vedno zelo prekrivajo. Seveda je nerealno pričakovati, da bi nam lahko uspelo uspešno razmejiti posamezne skupine rastlin z znaki okužbe zgolj na podlagi enega indeksa.

219



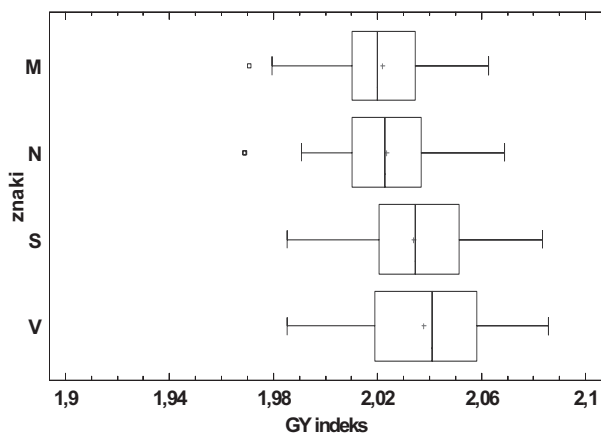
Slika 1: Okvir z ročaji za indeks SAVI za skupine rastlin z različno izraženimi bolezenskimi znamenji zlate trsne rumenice – kjer okvir ponazarja vrednosti med prvim in tretjim kvartilom vseh vrednosti, črta v okvirju mediano ter križec povprečje, medtem ko ročaja predstavljata vrednosti med minimalno vrednostjo in prvim kvartilom oziroma med tretjim kvartilom in maksimalno vrednostjo; točke zunaj okvirja z ročaji predstavljajo osamelce.

Nekateri indeksi, ki temeljijo na uporabi zelenega, rumenega in robno rdečega kanala, razmejujejo razrede podobno dobro. Med njimi se kot perspektivna kažeta predvsem RR indeks (količnik med vsoto odboja med robnim rdečim kanalom in rdečim kanalom ter njuno razliko) ter GY indeks (količnik med vsoto odboja v zelenem in rumenem delu spektra ter odbojem v zelenem delu). Tako denimo GY indeks statistično značilno razmeji rastline z zelo

in srednje izraženimi znamenji boleznimi, od povprečij rastlin, ki so brez vidnih znamenj ali z malo izraženimi znamenji boleznimi. Kot je razvidno iz obeh slik obstajajo razlike med povprečji skupin rastlin. Te razlike so praviloma močno statistično značilne ($p < 0,001$), vendar je še vedno precejšnje prekrivanje vrednosti indeksov med skupinami rastlin.

Obstaja več vzrokov za nejasno razmejitev med skupinami rastlin. Eden poglavitnih je prekrivanje rastlin v vrstnem prostoru. Zato so rastrske celice s homogeno informacijo, kot je npr. mogoče doseči pri drevesnih krošnjah, posamezne rastline redke. Tudi sicer, če se rastline z različno izraženimi bolezenskimi znamenji ne prekrivajo, imajo le redke rastrske celice homogeno informacijo. Pri rastlinah z vidnimi znamenji boleznimi je vrednost odboja praviloma sestavljena iz dela rastline, ki je brez očitnih znamenj okužbe ter dela, ki ima vidna znamenja okužbe. Poleg tega imajo robne rastrske celice v vrsti v sebi še delno informacijo medvrstnega prostora. Ne smemo pa spregledati tudi dejstva, da je osnovna prostorska resolucija večspektralnega posnetka 2×2 m, ki smo mu z ostrenjem s pankromatskim posnetkom izboljšali ločljivost. Vendar tovrstna izostritev nikoli ni tako dobra, kot bi bila osnovna $0,5$ m ločljivost večspektralnega dela posnetka.

220



Slika 2: Okvir z ročaji za indeks GY za skupine rastlin z različno izraženimi bolezenskimi znamenji zlate trsne rumenice.

Omenjeni vzroki manj jasnih razmejitev med skupinami rastlin z različno izraženimi znamenji zlate trsne rumenice, narekujejo iskanje kompleksnejšega algoritma, ki bo sestavljen iz več različnih indeksov. Dosedanje kombinacije indeksov algoritma identifikacije okuženih rastlin v vinogradu so na omejenem setu podatkov dosegle približno 70% natančnost identifikacije okuženih rastlin s srednje in močno izraženimi vidnimi znamenji boleznimi. Za učinkovito pomoč pri usmerjenem terenskem delu si želimo ta odstotek povečati do 80% natančnosti, kar je glede na podobne raziskave tudi realno gledano najbolj optimalen rezultat. Za doseg tega cilja smo v zadnjem obdobju uvedli tudi nove metode analize večspektralnih posnetkov vinorodnih območij, kot je strojno učenje oziroma rudarjenje s podatki. Prve analize podatkov

vinogradov posajenih z belimi sortami kažejo, da bo potrebno nadaljevati v ločenem iskanju algoritma za bele in rdeče sorte.

4 LITERATURA

- Huete, A. 1988. A soil-adjusted vegetation index (SAVI). *Remote Sensing of Environment*. 25(3): 295–309.
- Jones, H.G., R.A. Vaughan. 2010. *Remote Sensing of Vegetation: Principles, Techniques, and Applications*. 1st^{ed}. Oxford University Press, USA.
- Mehle, N., M. Ravnikar, G. Seljak, V. Knapič, M. Dermastia 2011. The most widespread phytoplasmas, vectors and measures for disease control in Slovenia. *Phytopathogenic mollicutes*, 2011, vol. 1, issue 2, str. 65-76.
<http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:mollicutes&volume=1&issue=2&article=003>
- Načrt ukrepov obvladovanja trsnih rumenic v Republiki Sloveniji (2011). Fitosanitarna uprava Republike Slovenije, 37 s.
http://www.uvhvvr.gov.si/fileadmin/uvhvvr.gov.si/pageuploads/DELOVNA_PODROCJA/Zdravje_rastlin/2013/Posebno_nadzorovani_organizmi/trsne_rumenice_in_ameriski_skrzatek/Nacrt_ukrepov_s_prejet_za_splet.pdf
- Oštir, K. 2006. Daljinsko zaznavanje. Založba ZRC.
- Vogelmann, J.E., B.N. Rock, D.M. Moss. 1993. Red edge spectral measurements from sugar maple leaves. *International Journal of Remote Sensing*. 14(8): 1563–1575

EPIDEMIOLOGIJA ANTRAKNOZE VINSKE TRTE S POVZROČITELJEM *Elsinoë ampelina* (Shear)

Domen BAJEC¹, Andreja PETERLIN², Karmen RODIČ³, Lucija LESKOVŠEK⁴

^{1,2,3} KGZS – Zavod NM, Služba za varstvo rastlin, Novo mesto

⁴ Griže

POVZETEK

Antraknoza vinske trte, ki jo povzroča gliva *Elsinoë ampelina*, je bolezen, ki je na našem območju znana že daljše časovno obdobje. Ob redni uporabi fungicidnih sredstev se je njen pojav dokaj uspešno omejeval in posledično pri pridelavi grozdja ni predstavljala resne gospodarske škodljivosti. Posebnosti posameznih vremenskih dejavnikov v zadnjem petletnem obdobju so začele omogočati razmere, ki ugodno vplivajo na razvoj patogena. Izstopajo leta 2009, 2010 in 2011, v katerih je začel obseg škode hitro naraščati, a je še vedno ostajal omejen na ljubiteljsko pridelavo značilno za območje vinorodne dežele Posavje. V tem obdobju smo sledili razvoju in širjenju bolezni ter beležili pogoje, ki omogočajo njeno izrazitost.

Ključne besede: antraknoza vinske trte, črni pikec, *Elsinoë ampelina* (Shear), epidemiologija, vinska trta

ABSTRACT

EPIDEMIOLOGY OF GRAPEVINE ANTHRACNOSE WITH PATHOGEN *Elsinoë ampelina* (Shear)

Grapevine anthracnose caused by *Elsinoë ampelina* is a disease, which is present in our region for a long time period. Regular practice of fungicides effectively constrained its incidence and consequently didn't represent serious economic harm for grape production. Specifics of different weather parameters in last five year period enabled conditions which favourable influence pathogen progress. Emphasized are years 2009, 2010 and 2011, when notable economic damage started to increase, yet was still constrained to low level production distinctive for winegrowing region of Posavje. In this period we followed disease development, as well as expansion and tracked conditions suitable for its intensity.

Keywords: Bird's eye disease of grapevine, *Elsinoë ampelina* (Shear), epidemiology, grapevine, Grapevine anthracnose

1 UVOD

Vrsta *Elsinoë ampelina* Shear (1929), ki povzroča antraknozo vinske trte in ima sinonime anamorfnega stadija: *Gloeosporium ampelophagum* (Pass.) Sacc., (1878); *Ramularia ampelophaga* Pass., (1876); *Sphaceloma ampelinum* de Bary, (1874); *Ramularia meyeri* Gar. & Catt.; *Gloeosporium venetum* Speg.; *Manginia ampelina* (de Bary) Viala &

¹ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, SI-8000 Novo mesto

² dipl. inž. agr. in hort., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ dr. agr. znan., Pongrac 83, SI-3302 Griže

Pacottet in teleomorfne stadija: *Uleomyces parasiticus* Henn.; *Plectodiscella veneta* Burkh.; *Elsinoe viticola* Racib. (Index Fungorum, 2013; CABI Compendium, 2013) spada med najstarejše opisane boleznine vinske trte pri nas. Prve domače zabeleške segajo v 1892, ko je Cilenshek bolezen poimenoval trtni pikec.

Ob uveljavljanju redne in čedalje pogostejše uporabe fitofarmaceutskih sredstev se je njen pojav dokaj uspešno omejeval in sčasoma pri pridelavi grozdja ni več predstavljala resne gospodarske škodljivosti. Zaradi podobnosti bolezenskih znamenj na poganjkah in listih s črno pegavostjo vinske trte (*Phomopsis viticola* Sacc.) v primeru prvih izrazitejših pojavov zelo verjetno antraknoza določeno obdobje med leti 2000 in 2008 niti ni bila pravilno prepoznana. Splet okoliščin s tehnologijo vinske trte in predvsem z vremenskimi dejavniki zadnjega petletja je začel omogočati razmere, ki ugodno vplivajo na razvoj patogena. Izstopajo leta 2009, 2010 in 2011 (Bajec in sod., 2009-2013), v katerih so se vrstili pojavi okužb tudi na grozdju, s čemer je začel obseg škode hitro naraščati. Škoda je še vedno ostala omejena na manjše vinograde vinorodne dežele Posavje z ročno obdelavo, manjšimi razmiki med vrstami in posledično manjšo zračnostjo. V tem obdobju smo sledili razvoju in širjenju bolezni ter beležili pogoje, ki omogočajo njeno izrazitost.

Razvoj patogena je opisan v več virih (Vršič in Lešnik, 2010; Jamadar, 2007), po katerih gliva prezimi v obliki micelija in sklerocijev na okuženih rozgah. Spomladi se na sklerocijih razvije micelij kot vir konidijskega inokuluma, ki se v deževnih pogojih z vsaj 2 mm padavin, 24 urne omočenosti in temperatur nad 2°C širi na druge rastlinske dele. Do primarnih okužb pride, ko nastopijo pogoji (vsaj 12 urna omočenost s prosto vodo in temperature med 2 in 32°C) in enocelični konidiji ovalne oblike kalijo. Višje ko so temperature, hitreje pride do okužb. Bolezenska znamenja se pri temperaturi 2°C razvijejo v 13 dneh in pri 32°C v le 4 dneh. Pri prvih, zgodnjih okužbah so prizadeti predvsem mladike in mladi lističi. Na nekrotiziranih conah (pegah) zelenih delov vinske trte se med rastno dobo tvorijo nespolni reproduktivni organi (acervuli), ki se pojavijo ob razvoju bolezni. Acervuli so vir konidijev za sekundarne okužbe med preostankom rastnega obdobja. V jeseni se na ranah na rozgah pojavijo sklerociji za prezimitev. Spolni stadij pri ohranjanju patogena nima nakazane odločilne vloge. Askospore se oblikujejo v spolnih plodiščih (pseudotecijih), ki se razvijejo na tleh na odrezanem trsju ali odpadlih okuženih grozdnih jagodah.

223

2 MATERIAL IN METODE

Podatke o pojavu in razvoju okužb antraknoze vinske trte smo zbirali z opazovanji v vinogradih vinorodne dežele Posavje med leti 2008 in 2012.

Meteorološke meritve na posameznih legah nadzora razvoja glive *Elsinoë ampelina* (Shear) smo opravili z napravami Adcon Telemetry GmbH (Adcon, 2012); obdelava meritev je potekala z aplikacijo Adcon addVantage Pro 5.4.

Postopek sledenja pogojem in razvoja okužbe s patogeno glivo je predvideval pravilno prepoznavanje okužb z laboratorijsko analizo, časovno umeščanje s sledenjem ustreznih krajevnih vremenskih razmer, nazaj do točke z izpolnjenimi pogoji za okužbo. Dogodke, katerim ne bi mogli opredeliti točnega termina okužbe, smo izločili.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

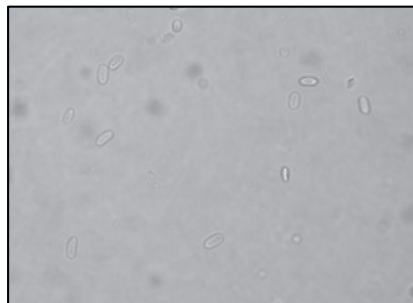
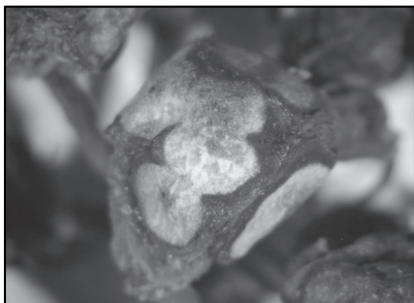
3.1 Prepoznavanje okužb

Okužbe z *Elsinoë ampelina* se razvijejo na vseh zelenih delih vinske trte. Mladike (mladi poganjki) so ob odganjanju potrjeni prvim okužbam. Stopnja okužb je v primeru

obilnejših padavin, oz. nestanovitnega vremena večja. Prepoznavanje je zaradi podobnih bolezenskih znamenj nekaterih drugih patogenih dejavnikov zahtevno.

Bolezenska znamenja na listih so zaznana v obliki nekroz, ki so že prvih nekaj ur po okužbi vidne kot svetle, ≤ 1 mm velike pege. V pegah rastlinsko tkivo odmira in po 2 dneh so okuženi listki zelo podobni napadom akarinoze. Zaznamujejo jih številne presvetljene točke okoli katerih je površina zaradi intenzivne rasti listne ploskve že deformirana. Po ~7 dneh zamenjava z akarinozo ni več možna; okuženo tkivo je odmrlo in prej svetle točke so lepo izražene kot črne, temno sive nekroze. V primeru večje gostote okužb na listno površino, se bližnje nekroze lahko združujejo. Ta pojav je pogostejši na listnih žilah, zaradi česar se prekine njihova prevodnost, ki vodi v slabitev lateralnih delov lista. Značilna so razbarvanja, rumenenje in v 3 tednih abszcizija. Redčenje listja je opazno skozi celo rastno dobo, izraziteje v bližini okuženih rozg, v notranjosti krošnje. Antraknozo na listih od črne pegavosti težje ločimo, a sledimo izrazitejšim pegam, s kontrastno izraženim robom. Tkivo v središču pege posivi in po odmrtnju pogosto izpade, rob pa je črn z vijoličastim tenom, ki ga od zdravega dela lista ločuje še ozek pas svetlega presvetljenega tkiva.

224



Sliki 1 in 2: Iz sklerocijev (črne točke na mestih okužbe) na odmrlem tkivu vinske trte se spomladi razvije micelij, ki je vir konidijev (desno). Foto: D. Bajec

Figures 1 and 2: In the spring mycelium grows from the sclerocium tissue (black spots on infections) and conidium inoculum is developed (right). Photo: D. Bajec

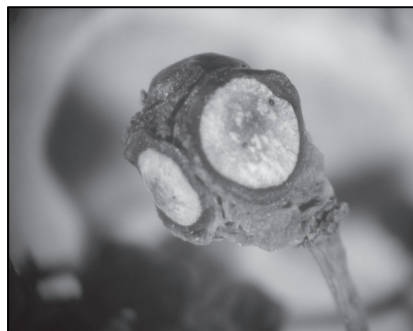


Sliki 3 in 4: Okužbe na listih prepoznavamo po kontrastnih robovih peg, katerih tkivo pogosto izpade, medtem ko okužb na rozgah brez izolacije patogena tekom laboratorijske analize ne moremo potrjevati. Foto: D. Bajec

Figures 3 and 4: Infections on leaves are recognized by contrast spots margins, where infected tissue often falls out, while infections on shoots are unconfirmable without the pathogen isolation. Photo: D. Bajec

Okužbe na poganjkih se kažejo z uleknjenimi nekrozami, pri katerih odmrlo tkivo posivi,

je svetlo rjavih odtenkov, obdaja ga kontrastni črni rob, ki prehaja v zdravo zeleno tkivo. Rane so ovalnih oblik, globoke in se lahko pojavljajo po celi dolžini, ne le okoli izhodišča poganjka, kot pri črni pegavosti vinske trte. Brez laboratorijske analize z izolacijo patogena iz nekroz je na poganjkih določanje pravega povzročitelja dvomljivo.



Sliki 5 in 6: Bolezenska znamenja na grozdu so najizrazitejši pokazatelj okužbe z antraknozo vinske trte.
Foto: D. Bajec
Figures 5 and 6: Symptoms on grapes are most conclusive indicator of Grapevine anthracnose infection.
Photo: D. Bajec

225

Okužbe pecljevine vzbujajo premalo pozornosti, saj so tovrstne okužbe značilne v obdobju tik po cvetenju (razvojne stopnje 68 do 74 po lestvici BBCH [Meier *et al.*, 2001]). Nekroze na pecljevini povzročijo več škode kot poškodbe grozdnih jagod. Zgodnje okužbe vodijo zaradi prekinitev prevodnega sistema v odmiranje celega grozda. Pege na pecljevini so v premeru manjše. Do okužb na grozdnih jagodah lahko prihaja vse do začetka zorenja. Na jagodah se okužbe kmalu razvijejo v obliki sivih peg obkroženih s temnim robom v črnih, vijoličastih odtenkih. Okužba se širi dokler dopušča sferična površina jagode, oz. dodatne nekroze na isti jagodi. Površina nekroze je ploska, v njeni sredini pa je pogosto opazna točka začetka okužbe. Ta lastnost pri podrobnejšem pregledu onemogoča zamenjavo s poškodbami zaradi fitotoksičnosti.

3.2 Občutljivost sort

Največjo občutljivost na okužbe smo zabeležili pri belih vinskih sortah, ki so sicer v vinorodni deželi Posavje zastopane v manjšem deležu. Ker se v vinorodnem okolju Dolenska in vinogradih (geografskih enotah rabe) goji širši sortiment, je na isti legi možna neposredna primerjava več sort hkrati. Najtrdovratnejše okužbe smo beležili na sortah: 'Štajerska belina' ali 'Ranfol', 'Kraljevina', 'Žlahtnina' in 'Laški rizling', ki so bele sorte za cviček PTP. Nekoliko redkejši je bil pojav pri rdečih sortah 'Modra frankinja', 'Zweigelt' in 'Gamay' ter še redke na 'Portugalki'. Na namiznih sortah je bila okužba opažena pri sortah 'Kraljica vinograda' in 'Kardinal'. Ker so namizne sorte sajene posamezno ali v manjšem številu trsov, se dejansko občutljivost primerja težje. Pri direktno rodnih hibridih vinske trte so se bolezenska znamenja opažala pogosteje kot pri žlahtnih trsnih cepljenkah.

3.3 Določanje pogojev okužb

V letih 2009, 2010 in 2012 smo po predhodnem izločanju obravnavali 11 dogodkov s pogoji okužb. Kljub temu nam za natančnejše opredeljevanje vremenskih pogojev ni uspelo zagotoviti zadostne stopnje korelacije.

3.4 Vpliv vremenskih razmer na razvoj antraknoze vinske trte

Za leta 2009, 2010, 2011 in 2012, ko je bila pojavnost okužb nadpovprečna je značilno, da jih v primerjavi s pojavnostjo drugih na padavine vezanih bolezni vinske trte ne moremo označiti za značilno 'peronospora leta'. Označujejo jih rastne dobe z visokimi temperaturami in redkejšimi, a intenzivnejšimi padavinami (ARSO, 2001-12).

3.5 Izvajanje varstva vinske trte

V okuženih vinogradih smo pri lastnikih preučevali vrsto in način uporabe fitofarmaceutskih sredstev. Vrsta in način uporabe sredstev, ki je v literaturi navedena kot učinkovita, smo preverjali pri lastnikih okuženih vinogradov, a kaže, da pri najbolj občutljivih sortah kot sta 'Ranfol' in 'Kraljevina' ne učinkujejo niti a.s. kot so kalcijev polisulfid pred brstenjem ter sredstva z a.s. folpet in al-fosetil v času od odganjanja mladik dalje.

4 SKLEPI

Opisi bolezenskih znamenj so vezani na sortiment vinorodne dežele Posavje. Zamenjave bolezenskih znamenj so pogostejše posebno pri prvih okužbah, ob začetku raste dobe, zlasti z napadi akarinoze (*Calepitrimerus vitis* Nalepa) ali črne pegavosti vinske trte (*Phomopsis viticola* Sacc.). Kasneje antraknozo in črno pegavost vinske trte še vedno težko ločujemo.

Bolezen se je v zadnjih petih letih začela pojavljati izraziteje in marsikje povzroča škodo, ki presega obseg primerljiv z drugimi glivičnimi boleznimi na vinski trti. Značilno je pojavljanje v letih z manjšo uporabo fungicidnih sredstev proti peronospori vinske trte. Pojav je poudarjen v vinogradih z večjo gostoto trsov, oz. kjer niso bila v zadostni meri izvedena zelena dela ali so zaraščeni in se po padavinah počasneje osušijo.

Antraknoza vinske trte je obvladljiva, a lahko v razmerah z ugodnimi okoljskimi razmerami na občutljivih sortah vseeno povzroči opazne izgube pridelka ter zaskrbljujoče poškodbe na lesu. Zaskrbljujoča je kratka inkubacijska doba v poletnem času, ko so roki za izvajanje varstva s fitofarmaceutskimi sredstvi zelo kratki. Priporočeno je odstranjevanje okuženih delov rastline iz vinograda in njihovo uničenje.

5 LITERATURA

Adcon Telemetry GmbH. 2012. Dostopno na: <http://www.adcon.at/> [januar 2013]

ARSO, Letni bilteni 2001-2012. Naše okolje. ISSN 1855-3575. Dostopno na: <http://www.arso.gov.si/o%20agenciji/knji%C5%BEnica/mese%C4%8Dni%20bilten/> [december 2012]

Bajec, D., Rodič, K., Peterlin, A. in sod., 2009-2013. Letna poročila o izvajanju nalog iz področja zdravstvenega varstva rastlin na Kmetijsko gozdarskem zavodu Novo mesto: Poročilo o opazovalno napovedovalni dejavnosti; Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto

CABI Compendium. Dostopno na:

<http://www.cabicompendium.org/NamesLists/CPC/Full/ELSIAM.htm> [28.02.2013]

Cilenšek, M. 1892. Naše škodljive rastline v podobi in besedi. Celovec. Družba sv. Mohorja; 5 zv. 768 str.

Index Fungorum. Dostopno na:

<http://www.speciesfungorum.org/GSD/GSDspecies.asp?RecordID=414937> [28.02.2013]

- Jamar, J.J., 2007. Etiology, epidemiology and management of Antrachnose of grapevine. PhD Thesis. University of Agricultural Sciences, Department of plant Pathology, College of Agricultural Sciences; Dharwad. 140 str.
- Meier, U., Bleiholder, H., Buhr, L., Feller, C., Hack, H., Hess, M., Klose, R., Lancashire, P.D., Strauss, R., Van den Boom, T., Weber, E., Wicke, H. 2001. Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. BBCH Monograph. 2nd Edition. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry. Dostopno na:
http://www.jki.bund.de/fileadmin/dam_uploads/_veroeff/bbch/BBCH-Skala_englisch.pdf
[25.03.2013]
- Vršič S., Lešnik M. 2010. Vinogradništvo – druga dopolnjena izdaja. ČZD Kmečki glas, Ljubljana, 403 str.

VPLIV METODE OCENJEVANJA STOPNJE OKUŽBE PRI DOLOČANJU UČINKOVITOSTI FUNGICIDOV ZA ZATIRANJE OIDIJA VINSKE TRTE (*Erysiphe necator*)

Stanislav VAJS¹, Mario LEŠNIK², Jože MIKLAVC³, Boštjan MATKO⁴, Miroslav MEŠL⁵,
Mojca PUŠNIK⁶

^{1,2,6} Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Maribor, Pivola
^{3,4,5} Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod Maribor, Maribor

IZVLEČEK

Ocenjevalci na terenu uporabljajo različne metode za ocenjevanje stopnje okužbe s povzročitelji bolezni na vinski trti. Da bi ugotovili, ali metode ocenjevanja stopnje okužbe vplivajo na dobljene rezultate pri določanju učinkovitosti fungicidov za zatiranje oidija vinske trte, smo na Fakulteti za kmetijstvo in biosistemske vede v Mariboru izvedli praktični in teoretični poskus. V okviru teoretičnega poskusa smo izbrali več nizov podatkov, na katerih smo opravili statistične izračune na različne načine. Potem smo preverili, ali smo dobili primerljive rezultate pri različnih načinih izračuna stopnje okužbe s povzročiteljem bolezni. Praktični poskus smo izvedli v letu 2007 in sicer v vinogradu na lokaciji Nebova pri Mariboru, kjer smo ocenjevali stopnjo okužbe z oidijem na trsih sorte 'Laški rizling'. Stopnjo okužbe smo vizualno ocenjevali po prilagojeni ocenjevalni lestvici 0-5 (Thownsend-Heuberger-jeva metoda), katera se v praksi pogosto uporablja. Dobljene rezultate smo primerjali z rezultati, pridobljenimi po neposredni metodi ocenjevanja odstotka okužene površine. Z analizo variance smo ugotavljali statistično značilne razlike med rezultati, dobljenimi z obema metodama. Ugotovili smo, da je bolj smiselno neposredno ocenjevanje (% površine) kot uporaba lestvic.

Ključne besede: pepelovka vinske trte, *Erysiphe necator*, vizualna ocena, odstotki, vinska trta, ocenjevalne lestvice

ABSTRACT

INFLUENCE OF THE DISEASE RATE SCOUTING METHOD ON THE EVALUATION OF EFFICACY OF FUNGICIDES FOR CONTROL OF GRAPE WINE POWDERY MILDEW (*Erysiphe necator*)

Evaluators use various methods for assessing infection rates of grapevine diseases in the field. To determine whether the disease rate assessment methods have any influence in determining the effectiveness of fungicide treatments on the degree of grapevine powdery mildew control, theoretical and practical experiments were performed at the Faculty of Agriculture and Life Sciences in Maribor. Several data sets were chosen on the basis of which the degree of disease rate was calculated according to different methods. Later results of different methods were compared to determine whether they yielded comparable results.

¹ mag., Pivola 10, SI-2311 Hoče

² prof. dr., prav tam

³ mag., Vinarska 14, SI-2000 Maribor

⁴ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁵ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁶ univ. dipl. inž. agr., Pivola 10, SI-2311 Hoče

Theoretical part of the experiment served as a basis for practical part, i.e., for the field experiment carried out on 'Laški rizling' vineyard in 2007 at Nebova. The degree of disease infection was firstly assessed visually according to adjusted bonitur scale 0-5 (Thownsend-Heuberger calculation), which is commonly used in practice. Results were compared to those obtained by direct method of assessment of percent diseased area. Analysis of variance was used to determine statistically significant differences between results obtained by aforementioned methods. The results show that the direct assessment method could be more suitable than different scouting scales for the assessment of percent diseased area.

Key words: grapevine powdery mildew, *Erysiphe necator*, visual assessment, percentages, grapevine, rating scales.

1 UVOD

Izvajanje ukrepov varstva rastlin je najpomembnejši tehnološki ukrep pri pridelovanju zdravega in kakovostnega grozdja. Za redno spremljanje stopnje učinkovitosti delovanja fungicidov se izvajajo poljski poskusi po določenih poskusnih protokolih. V različnih državah se uporabljajo različni poskusni protokoli, zato rezultati velikokrat niso primerljivi. Iščejo se metode, s katerimi je možno hitro in z majhnimi stroški objektivno oceniti delovanje fungicidov. V glavnem poznamo dva sistema ocenjevanja; ocenjevanje po neki v naprej določeni ocenjevalni lestvici in neposredno ocenjevanje deleža okužene površine v odstotkih. V Nemčiji so primerjali dve odstotni lestvici: P1 v 1 % korakih, kjer se podajo podatki neposredno v odstotkih in lestvico P5 v 5 % korakih v primerjavi z R9 kjer je bila uporabljena Horsfall-Barrattova prilagojena lestvica z 9 razredi (1 = 0 %, 2 = 0-2 %, 3 = 2-5 %, 4 = 5-8 %, 5 = 8 -14 %, 6 = 14-22 %, 7 = 22-37 %, 8 = 37-61 %, 9 = 61-100 %). Glede na rezultate analize ocenjevalcev je bila lestvica P5 uporabna in primerljiva s P1. Ocena napake pri P1 in P5 je bila nižja kot pri R9. Natančnost ocenjevanja moramo izboljšati z ustreznim usposabljanjem ocenjevalcev (Hartung in Piepho, 2007).

V literaturi je velikokrat uporabljena Horsfall-Barrattova (H-B) lestvica z različnimi razponi. V New Yorku so za opis stopnje okužbe uporabili (H-B) lestvico z razredi (1 = 0 %, 2 = 2 %, 3 = 5 %, 4 = 10 %, 5 = 20 %, 6 = 50 %, 7 = 80 %, 8 = 95 %, 9 = 100 % (Northover in Homeyer, 2001). Prednost (H-B) lestvice je ta, da imamo več ocenjevalnih razredov. Omejeni razponi pri visokih in nizkih vrednostih omogočajo večjo natančnost pri sledenju bolezni v daljšem časovnem obdobju. Pri alternativni lestvici z manj razredi lahko bolj koristno primerjamo učinkovitost FFS (Trigiano, 2003). V Južni Ameriki si pomagajo z diagrami lestvice, ki so nam v pomoč pri vizualnem ocenjevanju bolezni na vinski trti pri uporabi lestvic z različno širokimi razredi. So dragoceno orodje za določanje obsega in epidemiologije bolezni. Zmanjšujejo subjektivnost vizualnih ocen stopnje okužbe. Nekateri avtorji navajajo prednosti odstotnih lestvic. Ugotovili so, da so zgornje in spodnje meje enolično določene in da jih je enostavno razdeliti. Uporaba odstotnih lestvic je fleksibilnejša in splošno znana. Sistem odstotnih lestvic se lahko uporablja za merjenje stopnje okužbe s povzročitelji bolezni in ga je mogoče enostavno transformirati za epidemiološke analize izračuna stopnje okuženosti (Jones, 1999). V Avstraliji pri preučevanju učinkovitosti različnih fungicidov za zatiranje pepelovke vinske trte uporabljajo 10-točkovno lestvico, ki jo je razvil Dr. R.W. Emmett z razredi (1 = <1 %, 2 = 2 %, 3 = 5%, 4 = 10 %, 5 = 20 %, 6 = 40 %, 7 = 60 %, 8 = 80 %, 9 = 90 %, 10 = 100 %) (Wicks in Hitch, 2002).

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Teoretični del poskusa

V teoretičnem delu smo izbrali več teoretičnih nizov podatkov iz intervala [0,100] in jih uvrstili v pet različnih podatkovnih nizov:

Preglednica 1: Ocenjevalne lestvice, uporabljene v teoretičnem in praktičnem delu poskusa.

	RAZRED	delež okužene površine grozdja v %		RAZRED	delež okužene površine grozdja v %
lestvica 3			lestvica 2		
zelo malo različno širokih razredov	1	od 1 do 25	srednje veliko različno širokih razredov	1	od 0 do 10
	2	nad 25 do 50		2	nad 10 do 30
	3	nad 50 do 100		3	nad 30 do 50
		4		nad 50 do 80	
				5	nad 80 do 100
lestvica 1			lestvica 4		
lestvica Kmetijski zavod srednje veliko različno širokih razredov	1	od 0 do 5	srednje veliko različno širokih razredov	1	od 0 do 5
	2	nad 5 do 12,5		2	nad 5 do 10
	3	nad 12,5 do 25		3	nad 10 do 25
	4	nad 25 do 50		4	nad 25 do 40
	5	nad 50 do 100		5	nad 40 do 60
		6		nad 60 do 80	
		7		nad 80 do 100	
lestvica 5			lestvica 6		
srednje veliko različno širokih razredov	1	od 0 do 8	veliko enako širokih razredov	1	od 0 do 10
	2	nad 8 do 16		2	nad 10 do 20
	3	nad 16 do 32		3	nad 20 do 30
	4	nad 32 do 50		4	nad 30 do 40
	5	nad 50 do 65		5	nad 40 do 50
	6	nad 65 do 85		6	nad 50 do 60
	7	nad 85 do 100		7	nad 60 do 70
		8		nad 70 do 80	
		9		nad 80 do 90	
		10		nad 90 do 100	
lestvica 7			lestvica 8		
veliko različno širokih razredov	1	od 0 do 2,5	direktni podatki v odstotkih		
	2	nad 2,5 do 10			
	3	nad 10 do 20			
	4	nad 20 do 35			
	5	nad 35 do 50			
	6	nad 50 do 65			
	7	nad 65 do 75			
	8	nad 75 do 85			
	9	nad 85 do 95			
	10	nad 95 do 100			

Podatkovni niz 1 – podatki so razporejeni po celotnem intervalu vrednosti, pri čemer se pogosteje pojavljajo vrednosti iz intervala [30,60] (stopnja okužbe srednja),

Podatkovni niz 2 – podatki izrazito neenakomerno razpršeni po celotnem območju, pri čemer se pogosteje pojavljajo vrednosti iz intervalov [15,35] in [75, 95] (stopnja okužbe srednja),

Podatkovni niz 3 – večina podatkov je v intervalu [0,5] s posameznimi odstopanji v intervalu [5,30] (stopnja okužbe nizka),

Podatkovni niz 4 – večina podatkov je v intervalu [0,10] s posameznimi večjimi odstopanji v intervalu vrednosti [10,95] (stopnja okužbe nizka),

Podatkovni niz 5 – podatki enakomerno porazdeljeni po celotnem intervalu [0, 100] (stopnja okužbe srednja).

Nato smo glede na podatke iz literature in glede na izkušnje iz poskusov izbrali 7 različnih ocenjevalnih lestvic in dodali sistem neposrednega ocenjevanja deleža okužene površine (preglednica 1). Skušali smo ugotoviti uporabnost lestvic z različno širokimi razponi v primerjavi z neposrednim ocenjevanjem glede na različen podatkovni niz in ugotoviti vpliv metode ocenjevanja stopnje okužbe pri določanju učinkovitosti delovanja fungicidov. Podatke iz vsakega izmed 5 podatkovnih nizov smo obdelali na 8 različnih načinov in potem s pomočjo analize variance za ponovljene meritve ugotavljali značilnost razlik med ocenjevalnimi lestvicami.

2.2 Praktični del poskusa

Praktični poskus je bil izveden v letu 2007 v vinogradu na lokaciji Nebova pri Mariboru, kjer smo ocenjevali stopnjo okužbe z oidijem na sorti Laški rizling. Poskus je bil zasnovan v 4 naključnih blokih z 9 obravnavanji. Skupna površina poskusnega vinograda je merila 14 arov, posamezna parcelica je bila velika 35 m². Starost vinograda 32 let. Od 15. maja do 19. julija je bilo opravljenih 7 škropljenj proti oidiju vinske trte. Povprečni presedeček med posameznimi škropljenji je znašal 11 dni. Poskus smo ocenjevali 31. julija. Stopnjo okužbe s povzročiteljem bolezní smo vizualno ocenjevali na grozdih po neposredni metodi v odstotkih in po prilagojeni ocenjevalni lestvici Townsend-Heuberger od 0 do 5 (lestvica Kmetijski zavod), ki se v praksi pogosto uporablja.

3 REZULTATI

3.1 Rezultati z razpravo za teoretični del poskusa

Lestvica 8 se statistično značilno razlikuje od vseh ostalih. Med lestvicama 6 in 7 ni značilnih razlik med povprečji za stopnjo okužbe, kar pomeni da razdelitev velikostnih razredov ni imela vpliva na izračunano povprečje. Lestvici 6 in 7 bi bili v tem primeru sprejemljivi za praktično uporabo. Bolj kot so razredi široki, večja je napaka, zato lestvice od 1 do 4 niso primerne za podatke, kot so podatki niza 1, kjer imamo podatke razdeljene po celotnem intervalu vrednosti pri čemer se pogosteje pojavljajo vrednosti intervala [30,60].

Iz rezultatov je razvidno, da se lestvice 6, 7 in 8 ne razlikujejo statistično značilno. Dajanje neposrednih vizualnih ocen je bilo enakovredno uporabi lestvic 6 in 7, zato lahko ti lestvici obravnavamo kot uporabni za tip, kjer so podatki izrazito neenakomerno razpršeni po celotnem območju, pri čemer se pogosteje pojavljajo vrednosti iz intervalov [15,35] in [75, 95]. Lestvice 3, 4 in 5 niso ustrezne za ta tip podatkov. Največje odstopanje je bilo pri lestvici 1, kar pa nismo pričakovali. Po lestvici 1 je stopnja okužbe izredno velika. Lestvica 1 se v praksi pri ocenjevanju bolezní pogosto uporablja. To kaže na možne napake pri vrednotenju rezultatov poskusov v praksi.

Podatki podatkovne niza tipa 3, ki se nahajajo v intervalu [0,5] s posameznimi odstopanji v intervalu [5,30] se v praksi navadno pojavijo, ko imamo v poskusu razmeroma majhno okužbo. Takrat težko ocenimo okužbo, ker je slabo opazna. Iz preglednice je razvidno, da se

podatki po lestvici 8 statistično značilno razlikujejo od vseh ostalih obravnavanj. Po lestvici 1 je stopnja okužbe znašala 22,34 % kar je povsem neuporabno v primerjavi z lestvico 8, kjer je stopnja okužbe 4,18%.

Preglednica 2: Prikaz statistično značilnih razlik med povprečji za stopnjo okužbe izračunane glede na uporabo različnih ocenjevalnih lestvic za podatkovni niz 1

Aritmetična sredina za niz 2=45,89	1 = 83,95	2 = 64,10	3 = 74,29	4 = 67,28	5 = 58,39	6 = 49,79	7 = 51,57	8 = 45,89
1 = 83,95	X							
2 = 64,10	*	X						
3 = 74,29	*	*	X					
4 = 67,28	*	*	*	X				
5 = 58,39	*	/	*	/	X			
6 = 49,79	*	*	*	*	/	X		
7 = 51,57	*	*	*	*	/	/	X	
8 = 45,89	*	*	*	*	*	*	*	X

* Povprečja po posameznih lestvicah označena z zvezdico se med seboj statistično značilno razlikujejo po Bonferronijevem testu mnogoterih primerjav pri 5 % tveganju.

Preglednica 3: Prikaz statistično značilnih razlik med povprečji za stopnjo okužbe izračunane glede na uporabo različnih ocenjevalnih lestvic za podatkovni niz 2

Aritmetična sredina za niz 2=50,04	1 = 78,95	2 = 64,70	3 = 69,33	4 = 67,83	5 = 63,85	6 = 52,01	7 = 53,86	8 = 50,04
1 = 78,95	X							
2 = 64,70	*	X						
3 = 69,33	*	*	X					
4 = 67,83	*	*	*	X				
5 = 63,85	*	/	*	*	X			
6 = 52,01	*	*	*	*	*	X		
7 = 53,86	*	/	*	*	/	/	X	
8 = 50,04	*	*	*	*	*	/	/	X

* Povprečja po posameznih lestvicah označena z zvezdico se med seboj statistično značilno razlikujejo po Bonferronijevem testu mnogoterih primerjav pri 5 % tveganju.

Preglednica 4: Prikaz statistično značilnih razlik med povprečji za stopnjo okužbe izračunane glede na uporabo različnih ocenjevalnih lestvic za podatkovni niz 3

Aritmetična sredina za niz 3=4,18	1 = 22,34	2 = 19,37	3 = 27,01	4 = 16,26	5 = 13,62	6 = 9,01	7 = 14,35	8 = 4,18
1 = 22,34	X							
2 = 19,37	/	X						
3 = 27,01	*	/	X					
4 = 16,26	*	/	*	X				
5 = 13,62	*	/	*	*	X			
6 = 9,01	*	*	*	*	*	X		
7 = 14,35	*	/	*	*	/	*	X	
8 = 4,18	*	*	*	*	*	*	*	X

* Povprečja po posameznih lestvicah označena z zvezdico se med seboj statistično značilno razlikujejo po Bonferronijevem testu mnogoterih primerjav pri 5 % tveganju.

Podatki iz podatkovnega niza 4, kjer imamo majhne vrednosti - večina podatkov je v intervalu [0,10] s posameznimi večjimi odstopanji v intervalu vrednosti [10,95], se v praksi ne pojavljajo pogosto. Včasih se v takšnih primerih vrednosti, ki zelo odstopajo izločijo iz statistične obravnave. Povprečja za stopnjo okužbe po lestvici 8 so še vedno statistično

značilno različna od vseh ostalih povprečij, izračunanih po lestvicah od 1 do 7. Lestvice 5, 6 in 7 dajejo nekoliko manjše vrednosti, lestvice 1, 2, 3 in 4 pa nekoliko večje vrednosti v primerjavi z aritmetično sredino lestvice 8. Pri uporabi lestvice 6 bi bila razlika še sprejemljiva za praktično uporabo.

Preglednica 5: Prikaz statistično značilnih razlik med povprečji za stopnjo okužbe izračunane glede na uporabo različnih ocenjevalnih lestvic za podatkovni niz 4

Aritmetična sredina za niz 4=13,48	1 = 33,46	2 = 26,50	3 = 36,30	4 = 26,14	5 = 22,92	6 = 17,55	7 = 22,37	8 = 13,48
1 = 33,46	X							
2 = 26,50	*	X						
3 = 36,30	*	*	X					
4 = 26,14	*	/	*	X				
5 = 22,92	*	*	*	*	X			
6 = 17,55	*	*	*	*	*	X		
7 = 22,37	*	*	*	*	/	*	X	
8 = 13,48	*	*	*	*	*	*	*	X

* Povprečja po posameznih lestvicah označena z zvezdico se med seboj statistično značilno razlikujejo po Bonferronijevem testu mnogoterih primerjav pri 5 % tveganju.

Preglednica 6: Prikaz statistično značilnih razlik med povprečji za stopnjo okužbe izračunane glede na uporabo različnih ocenjevalnih lestvic za podatkovni niz 5

Aritmetična sredina za niz 5=30,96	1 = 59,49	2 = 45,36	3 = 54,45	4 = 45,78	5 = 42,67	6 = 33,94	7 = 37,79	8 = 30,96
1 = 59,49	X							
2 = 45,36	*	X						
3 = 54,45	*	*	X					
4 = 45,78	*	/	*	X				
5 = 42,67	*	*	*	/	X			
6 = 33,94	*	*	*	*	*	X		
7 = 37,79	*	*	*	*	*	*	X	
8 = 30,96	*	*	*	*	*	*	*	X

* Povprečja po posameznih lestvicah označena z zvezdico se med seboj statistično značilno razlikujejo po Bonferronijevem testu mnogoterih primerjav pri 5 % tveganju.

Natančno vidimo, da je največje odstopanje pri lestvici 1, kjer imamo zelo široke razrede. Podatki iz podatkovnega niza 5 so dokaj realni glede na podatke, ki jih navadno dobimo v poskusih, kjer preizkušamo učinkovitost delovanja fungicidov za zatiranje glivičnih bolezni. Podobno kot v primeru niza 1 vidimo, da se povprečja za stopnjo okužbe, dobljena z uporabo lestvic najbolj približajo vrednostim po lestvici 8, če uporabimo lestvice z veliko razredi. Več kot je razredov, bolj se približamo lestvici 8.

3.2 Rezultati z razpravo za praktični del poskusa

Iz rezultatov stopnje okužbe je razvidno, da velikih odstopanj v stopnji okužbe med posameznimi obravnavanji po lestvici 1 (Townsend-Heuberger) ni bilo. Edini statistično značilno različni škropilni program je bil program »BIO-EKO«. Vsi preizkušeni pripravki in programi so pokazali visoko učinkovitost delovanja proti oidiju na grozdju (91,8 % in več). Največja učinkovitost je bila dosežena s programom »Karsia« (99,6 %) ter pripravkom Cabrio (99,2 %), nekoliko nižje učinkovitosti pa smo dosegli s ostalimi programi in pripravki. Rezultati stopnje okužbe po neposredni metodi so skoraj enaki kot v primeru izračuna na

podlagi lestvice 1 (Townsend-Heuberger). Tudi v tem primeru izračuna je bil statistično značilno različen le program »BIO-EKO«. So pa absolutne vrednosti stopnje okužbe pri neposrednem ocenjevanju nekoliko manjše. To je posledica tega, da ima lestvica 1 dokaj širok prvi razred (0-5 %). Če je veliko ocen manjših od sredine tega razreda pride do odstopanja med obema pristopoma. Po sistemu neposrednega ocenjevanja odstotne okužbe vsi preizkušeni pripravki in programi prikazujejo nekoliko višjo učinkovitost v primerjavi s sistemom Townsend-Heuberger. Rezultati kažejo, da je učinkovitost pripravkov 97,5 % in več. Najvišjo učinkovitost je pokazal program »Karsia« (99,95 %), ter pripravka Cabrio (99,8 %) in Nativo (99,8 %). Ta poskus je primer poskusa, ko so fungicidi zelo dobro delovali in je bila večina ocen v razredu 0-5. V primeru slabšega delovanja fungicidov oziroma, da bi v poskusu imeli nekaj fungicidov, ki bi delovali dobro, in nekaj takih, ki bi delovali slabo, bi zelo verjetno prišlo do večjih razlik med obema metodama ocenjevanja, ki smo ju primerjali v našem poskusu.

4 SKLEPI

- Z izbiro ustrezne metode ocenjevanja stopnje okužbe s povzročitelji bolezni vplivamo na izračunano učinkovitost fungicidov.
- Učinkovitost fungicidov je pri izbiri metode neposrednega ocenjevanja deleža okužene površine nekoliko višja v primerjavi z uporabo sistema lestvic. Pri primerjavi izračunanih učinkovitosti prihaja do velikih razlik. Po lestvici 1, ki se v praksi pogosto pojavlja, fungicid nima skoraj nobene učinkovitosti v primerjavi z neposrednim ocenjevanjem.
- Posledica velikega odstopanja je v razredih, in sicer bolj ko so razredi široki, večja je napaka. Pri uporabi lestvic 6 in 7 bi verjetno razlika bila še sprejemljiva za praktično uporabo in z njeno uporabo ne bi naredili prevelike napake.
- Povprečja za stopnjo učinkovitosti dobljena z uporabo lestvic se najbolj približajo vrednostim po lestvici 8, če uporabimo lestvice z veliko razredi.
- Sistem uporabljanih lestvic moramo zelo dobro prilagoditi vsakokratnim realnim podatkom v nekem poskusu, sicer so odstopanja prevelika.
- Na podlagi rezultatov iz naših poskusov sklepamo, da je sistem uporabe lestvic manj priporočljiv v primerjavi s sistemom neposrednega ocenjevanja. Med sistemoma prihaja do prevelikih odstopanj.
- Smiselno je opustiti sistem uporabe lestvic in preiti na sistem neposrednega ocenjevanja, ki je hitrejši in prinaša manjšo porabo časa za izvajanje računskih operacij.

5 LITERATURA

- Hartung, K., Piepho, H.P. 2007. Are ordinal rating scales better than percent ratings? A statistical and "psychological" view. *Euphytica*, 155: 15-26.
- Jones, D.G. 1999. The epidemiology of plant diseases. Kluwer Academic Publishers: 283-295.
- Northover, J., Homeyer, C.A. 2001. Detection and management of myclobutanil - resistant grapevine powdery mildew (*Unicula necator*) in Ontario. *Can. J. Plant Pathol.*, 23: 337-345.
- Wicks, T.J., Hitch, C.J. 2002. Managing new fungicides for the control of powdery mildew and other grape diseases. GWRDC Final Report. SAR 99/3: 30-49.
- Trigiano, R.N., Windham, M.T., Windham, A.S. 2003. Plant pathology Concepts and Laboratory Exercises. CRC PRESS: 117-126, 285-293, 320-323.

TRAHEOMIKOZE V VINOGRADIH VINORODNE DEŽELE POSAVJE

Domen BAJEC¹, Karmen RODIČ², Andreja PETERLIN³, Lucija LESKOVŠEK⁴

^{1, 2, 3} KGZS – Zavod Novo mesto, Služba za varstvo rastlin, Novo mesto
⁴ Griže

IZVLEČEK

S traheomikotskimi obolenji na vinski trti se pogosteje srečujemo zlasti v letih z izrednimi vremenskimi razmerami. Označujemo jih kot kap vinske trte. K lažjemu izražanju bolezenskih znamenj pripomorejo vinski trti stresne razmere s pomanjkanjem vode in intenzivnejšo evapotranspiracijo. Po zunanjih bolezenskih znamenjih lahko opisujemo različne pojave esce, petrijeve bolezni, trsne metličavosti, ... ki jih povzročajo v glavnem glive iz kompleksa *Phaeoacremonium*. Nadzor zdravstvenega stanja vinogradov daje vpogled v stopnjo okuženosti na območju vinorodne dežele Posavje.

Ključne besede: esca, kap vinske trte, petrijeva bolezen, traheomikoze, trsna metličavost

ABSTRACT

TRACHEOMYCOTIC DISEASES IN VINEYARDS OF WINE GROWING REGION POSAVJE

The incidence of tracheomycotic diseases is frequent mainly in the years with extraordinary weather conditions. They are characterized as grapevine trunk diseases. Symptoms are easily expressed during grapevine stress conditions considering water deficiency and intense evapotranspiration. After visual signs of disease we can describe different types of Esca, Petri disease, Eutypha disease, ... which are caused mainly by fungi from *Phaeoacremonium* complex. Supervision of vineyards health condition gives assessment in grade of infection in the Posavje wine growing region.

Keywords: Esca, Eutypha disease, grapevine trunk diseases, Petri disease, Tracheomycotic diseases

1 UVOD

S traheomikotskimi obolenji na vinski trti se pogosteje srečujemo zlasti v letih z izrednimi vremenskimi razmerami, ko k lažjemu izražanju bolezenskih znamenj pripomorejo vinski trti stresne razmere s pomanjkanjem vode in intenzivnejšo evapotranspiracijo. Označujemo jih z različnimi poimenovanji, najpogosteje kot kap vinske trte. Povzročitelji so v glavnem skupine gliv, kompleksne vrstne sestave.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Pojavnost in stopnja okuženosti vinogradov

¹ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, SI-8000 Novo mesto

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ dipl. inž. agr. in hort., prav tam

⁴ dr. agr. znan., Pongrac 83, SI-3302 Griže

Podatke o pojavu in stopnji okuženosti s traheomikozami v vinogradih vinorodne dežele Posavje smo zbirali z opazovanji v letih 2010 in 2012 (Bajec in sod., 2011-2013). Obravnavali smo geografske enote rabe kmetijskih zemljišč (gerk). V letu 2011 smo opravili preglede 433 in v 2012 484 gerk-ov. Izražanje bolezenskih znamenj je bilo v letu 2012 občutno povečano, zato smo v obravnavo vzeli 100 enot iz zadnjega leta nadzora. Obravnavane enote so bile izbrane na osnovi enakomerne geografske zastopanosti in reprezentativnosti celotne vinorodne dežele. Starost vinogradov smo rangirali v razred novih vinogradov (starost 1 do 3 leta), mlajših vinogradov (starost 4 do 7 let), srednje starih vinogradov (8 do 15 let) in starejših vinogradov (starosti 16 in več let). Na posameznih gerkih smo z beleženjem vidno izraženih bolezenskih znamenj podajali ocene o stopnji okužbe. Pri podajanju ocene nismo razlikovali med znamenji opisanimi kot petrijeva bolezen, akutna esca, kronična esca, kap vinske trte, idr. (Bukovec in sod., 2005; Konjedic, 2011; Vršič in Lešnik, 2010; Žežlina in sod., 2003; Žežlina in sod., 2007;). Za pravilno opredeljevanje bolezenskih skupin bi bilo potrebno detajlno ugotavljanje patogenov.

2.2 Obravnavana bolezenska znamenja

Pri pregledu vinogradov smo za ocenjevanje stopnje okužbe obravnavali naslednja bolezenska znamenja: sušenje posameznih listov bodisi med listnimi žilami ali robu listne ploskve, sušenje cele listne ploskve, sušenje in propadanje posameznih poganjkov vinske trte (šparonov), venenje in sušenje cele rastline, znamenja na grozdju, znamenja na steblo – pregled stebela s prečnim prerezom.

2.3 Izolacija in določanje možnih povzročiteljev traheomikoz

Med pregledovanjem vinogradov v 2012 smo odvzeli vzorce 7 trsov s simptomi esce (Mugnai in sod., 1999; Vršič in Lešnik, 2010). Les smo površinsko razkužili z ožiganjem in delce izrezanih sredic nacepili na gojišče PDA (Biolife, Italiana S.r.l). Gojišča smo pri konstantni temperaturi 22°C in v temi inkubirali 7 dni, na kar smo razvite kulture precepili. Po istem postopku smo analizirali tudi les vzorca odvzetega iz trsa z enakimi simptomi v letu 2010. Po 3 in 6 tednih smo na podlagi morfoloških lastnosti določali izolate.

236

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Pojavnost in stopnja okuženosti vinogradov

Ocenjujemo, da so okoliščine z izrazito neugodno razporeditvijo padavin v letu 2012 vplivale na občutno povečano stopnjo izražnja bolezenskih znamenj traheomikoz vinske trte. Povprečna stopnja okužbe določena na osnovi vidnih bolezenskih znamenj je 17,4%. Povprečna stopnja okužbe po starostnih rangih je prikazana v preglednici 1.

Preglednica 1: Rezultati pregledov vinogradov na bolezenska znamenja s traheomikotskimi obolenji v letu 2012.
Table 1: Results of vineyards examination on tracheomycotic symptoms infections in year 2012.

Rang:	Opis:	Povprečna ocena stopnje okužbe starostnega ranga:	Število vinogradov v obravnavi:
1 do 3 leta	novi vinogradi	51,0%	5
4 do 7 let	mlajši vinogradi	27,1%	14
8 do 15 let	srednje stari vinogradi	8,3%	45
16 in več let	starejši vinogradi	19,7%	36

Pri interpretaciji rezultatov o povprečni oceni stopnje okužbe posameznega starostnega ranga je pri rangiranih skupinah z manjšim številom vinogradov v obravnavi potrebno upoštevati večje posamezne odklone.

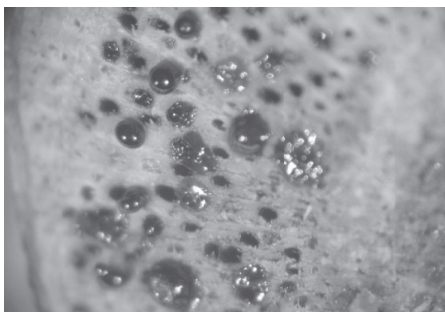
3.2 Obravnavana bolezenska znamenja

Večino trsov v obravnavanih vinogradih smo kot pozitivne prepoznali po bolezenskih znamenjih na listih, s sušenjem medžilnega prostora ali roba listne ploskve. V rangu novih in mlajših vinogradov smo ob izrazitih znamenjih sušenja opravili še prerez debla. Ob pregledu prerezanega debla smo v letu 2012 v vseh primerih, v času 3 do 4 minut po porerezu, opazili gumozne, lepljive in prozorne izločke. Ob pregledih vinogradov iz obdobja leta 2010 in prej, smo pri pregledih prerezov debla vinske trte ob ostalih simptomih traheomikoz iz prevodnega sistema opazili le izločanje kapljic črnega, katranastega izločka. V rangu starejših vinogradov smo na deblu občasno opazili tudi simptome ran, odmrlih delov stebela.



237

Sliki 1 in 2: Pri pregledu prerezov stebel trt z izraženimi bolezenskimi znamenji v letu 2012 je bil izločen izcedek gumozen, lepljiv in prozoren. Foto: D. Bajec
Figures 1 and 2: During examination of cut symptomatic vine trunks in year 2012, the excretion was gummy and clear. Photo: D. Bajec



Slika 3: Prerez stebela vinske trte s simptomi traheomikoz pred letom 2011. Izloček iz prevodnega sistema se je v obliki črnih, katranastih kapljic pokazal v 3-4 minutah po prerezu stebela vinske trte.
Figure 3: Vine tree trunk section with tracheomycotic symptoms before year 2011. Secretion from veins appeared as black, tar like drops in 3-4 minutes after the trunk was cut.

3.3 Izolacija in določanje možnih povzročiteljev traheomikoz

Na osnovi morfoloških lastnosti izoliranih kultur gliv, smo zabeležili možno pripadnost rodovom *Phaeoconiella* (vzorec iz 2010), *Phaeobotryosphaeria* (vzorci iz 2012) in *Phaeoacremonium* (vzorec iz 2010 in vzorci iz 2012). Nedoločene in indiferentne kulture (rodova *Alternaria*, *Botrytis*) smo izločili. Za določanje možnih povzročiteljev traheomikoz je potreben sistematičen pristop z zajemom čim večjega števila vzorcev, povečan nabor izolatov in uporaba molekularnih metod.

4 SKLEPI

Stopnja traheomikotskih obolenj vinske trte zabeležena na podlagi vidnih znamenj v vinorodni deželi Posavje je zaskrbljujoča. Stopnja okužbe v novih vinogradih nakazuje pomen prenosa s sadilnim materialom. Z beleženjem smeri širjenja bolezenskih znamenj lahko v posameznih vinogradih sklepamo tudi na večjo vlogo prenosa ob rezi in drugih fizično abrazivnih opravilih. Pri tem si zastavljamo vprašanje o različnih možnostih prenosa med zimsko ročno rezjo in letnim strojnim vršičkanjem neolesenelih poganjkov.

Po zastopanosti vidno prepoznavnih bolezenskih znamenj traheomikotičnih obolenj v vinorodni deželi Posavje prevladuje esca, precej je zastopana tudi petrijeva bolezen. Le občasno je opazen rdeči listni ožig vinske trte (*Pseudopezicula tracheiphila* (Müll.-Thurg.) Korf & W.Y. Zhuang), medtem ko okužb s trsno metličavostjo (*Eutypa lata* (Pers.) Tul. & C. Tul.) še nismo zaznali.

Za določanje možnih povzročiteljev traheomikoz je potreben sistematičen pristop z zajemom čim večjega števila vzorcev, povečan nabor izolatov in uporaba molekularnih metod. Mnoge raziskave na področju traheomikotskih obolenj vinske trte potrjujejo, da jih povzročajo številne glive v kompleksnih medsebojnih razmerjih. Z napredovanjem diagnostičnih metod je predvidevati nova odkritja, ki v trenutno potrjena razmerja patogenih vrst mogoče ne bodo vključevala le glivičnih povzročiteljev. Iz opazovanj v naravi in analiz odvzetih vzorcev sklepamo, da se v posameznih rastnih dobah, ob specifičnih okoliščinah lažje izrazijo in prevladajo določeni povzročitelji.

5 LITERATURA

238

- Bajec, D., Rodič, K., Peterlin, A. in sod., 2012-2013. Letna poročila o izvajanju nalog iz področja zdravstvenega varstva rastlin na Kmetijsko gozdarskem zavodu Novo mesto: Poročilo o opazovalno napovedovalni dejavnosti; Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto
- Bukovec, M., Celar, F., Valič, N. 2005. Kap vinske trte in njeni možni povzročitelji v vinorodni deželi Primorska. V: Zbornik predavanj in referatov 7. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Zreče 8.-10. marec 2005. Vajs S., Lešnik M. (ur.). Ljubljana. Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 362-366.
- Konjedic, D. 2011. Spremljanje kapi žlahtne vinske trte (*Vitis vinifera* L.) v vinorodni deželi Primorska. Diplomsko delo. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo. Ljubljana: 39 str.
- Mugnai, L., Graniti, A., Surico, G. 1999. Esca (Black Measles) and Brown-Streaking: Two Old and Elusive Diseases of Grapevine. The American Phytopathological Society. Plant Disease. Vol. 83/5: 404-418.
- Niekerk van, J.M., Strever, A.E., P. Toit du, D., Halleen, F., Fourie, P.H. 2011. Influence of water stress on Botryosphaeriaceae disease expression in grapevines. Phytopathologica Mediterranea; 50 (Supplement): 151-165
- Úrbez-Torres, J.R. 2011. The status of Botryosphaeriaceae species infecting grapevines. Review. Phytopathologica Mediterranea; 50 (Supplement): 5-45
- Vršič S., Lešnik M. 2010. Vinogradništvo – druga dopolnjena izdaja. ČZD Kmečki glas, Ljubljana, 403 str.
- Žežlina, I., Škvarč, A., Seljak, G. 2003. Kap vinske trte – fitopatološki problem, ki ostaja. V: Zbornik predavanj in referatov 6. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Zreče 4.-6. marec 2003. Maček J. (ur.). Ljubljana. Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 132-139.
- Žežlina, I., Škvarč, A., Rot, M., Carlevaris, B. 2007. Petrijeva bolezen, akarinoza, ali kaj drugega? V: Zbornik predavanj in referatov 8. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci 6.-7. marec 2007. Maček J. (ur.). Ljubljana. Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 238-240.

LABORATORY BIOASSAYS OF ENTOMOPATHOGENIC OR POTENTIALLY PLANT GROWTH PROMOTING FUNGAL STRAINS FOR THE CONTROL OF CABBAGE ROOT FLY (*Delia radicum* L.) AND THEIR RHIZOSPHERE COMPETENCE

Jaka RAZINGER¹, Matthias LUTZ², Hans-Josef SCHROERS³, Gregor UREK⁴,
Jürg GRUNDER⁵

^{1,3,4} Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana
^{1,2,5} Zuriška univerza za aplikativne znanosti, Wädenswil, Switzerland

ABSTRACT

Entomopathogenicity of 9 entomopathogenic and/or potentially plant growth promoting fungal species was assessed against cabbage root fly (CRF) in soil and in-vitro laboratory bioassays. 18 different isolates were tested. All isolates tested were infective to one or more life stages of CRF (eggs, larvae, pupae or imago). Abbott's corrected mortality in soil experiments ranged from 4.5 ± 13.6 % to 58.4 ± 15.0 % and in the in-vitro experiments from 8.7 ± 5.0 % to 47.6 ± 9.0 %. The 7 most pathogenic isolates (*T. atroviride*, *T. konigiopsis*, *T. gamsii*, *B. bassiana*, *M. anisopliae* (2 isolates) and *C. solani* f. *nigrovirens*) were further tested for their rhizosphere competence and abilities to grow as endophytes. The preliminary results showed that rhizosphere competence varied slightly but endophytism considerably, possibly due to the ecological preferences of the different fungal species.

Keywords: biological control, biopesticide, Diptera, pest

IZVLEČEK

LABORATORIJSKI POSKUSI ENTOMOPATOGENIH ALI POTENCIALNO RAST SPODBUJAJOČIH GLIV ZA ZATIRANJE KAPUSOVE MUHE (*Delia radicum* L.) IN NJIHOVA RIZOSFERNA KOMPETENCA

Ocenjevali smo entomopatogeni potencial devetih entomopatogenih ali potencialno rast spodbujajočih vrst gliv za zatiranje kapusove muhe (KM). Preskušali smo 9 vrst gliv, skupno 18 različnih izolatov. Vsi testirani izolati so uspešno okuževali enega ali več razvojnih stadijev KM (jajčeca, ličinke, bube ali imago). Smrtnost po Abbottovemu popravku v substratnih poskusih je bila od $4,5 \pm 13,6$ % do $58,4 \pm 15,0$ %, v *in-vitro* poskusih pa od $8,7 \pm 5,0$ % do $57,6 \pm 12,0$ %. Sedem najbolj patogenih izolatov (*T. atroviride*, *T. konigiopsis*, *T. gamsii*, *B. bassiana*, *M. anisopliae* (2 izolata) in *C. solani*) je bilo dodatno testiranih za njihovo rizosferno prilagojenost in endofitskost. Prvi rezultati nakazujejo, da se rizosferna prilagojenost malo razlikuje, endofitskost pa precej, verjetno zaradi specifičnih okoljskih zahtev različnih izolatov gliv.

Ključne besede: biotično varstvo, biopesticid, Diptera, škodljivec

¹ dr., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana in Campus Gruental P.O.Box 335, CH-8820 Wädenswil, Švica;
e-mail: jaka.razinger@kis.si

² dr., Campus Gruental P.O.Box 335, CH-8820 Wädenswil, Švica

³ dr. rer. nat., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

⁴ doc. dr., prav tam

⁵ dr., Campus Gruental P.O.Box 335, CH-8820 Wädenswil, Švica

1 INTRODUCTION

Cabbage, cauliflower and other brassicaceous plants are attacked by many insect pests (Klingen *et al.*, 2002). Specifically the cabbage root flies (CRF) *Delia radicum* and *Delia floralis* present major threats for many *Brassica* crops in Europe (Vanninen *et al.*, 1999). No sustainable control strategies are currently available however, several papers report that larvae of *Delia* sp. can be biologically controlled using entomopathogenic fungi (Vanninen *et al.*, 1999; Klingen *et al.*, 2002; Bruck *et al.*, 2005).

Entomopathogenic fungi kill dipterous insects after they are ingested or through infection via external contact (Thomas and Read, 2007; Toledo *et al.*, 2007). Both mechanisms imply that an effective biological control agent should live in juxtaposition of either the crop or the insect pest. The aim of the study was to screen aggressiveness of the various isolates to CRF, to evaluate their rhizosphere competence and possible endophytic lifestyle, and to check if the fungal isolates have an effect on plant growth and survival.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 *Delia radicum* rearing

CRF were reared according to protocols kindly provided by Dr. M. Hommes (Julius Kühn Institute, Braunschweig, Germany) and Harris and Svec (1966) with minor modifications.

2.2 Entomopathogenic fungi collection and growing

Nine entomopathogenic or potentially plant growth promoting fungal species were used in the *in-vitro* and soil laboratory bioassays. The fungal strains were isolated from various substrata in Slovenia. The isolates are being kept in the mycological collection of the Agricultural Institute of Slovenia. Altogether, 18 different isolates were tested: *Trichoderma atroviride* (isolates 1872 and 1873), *T. koningiopsis* (1874), *T. gamsii* (1875, 1876 and 1879), *Beauveria brongniartii* (1877), *B. bassiana* (1174 and 1878), *Metarhizium robertsii* (1880), *M. anisopliae* (1154, 1704, 1858 and 1868), *Purpureocillium lilacinum* (1796 and 1797) and *Clonostachys solani* f. *nigrovirens* (1828 and 1860).

2.3 Entomopathogenicity tests

The *in-vitro* tests were designed to screen pathogenicity of the various fungal isolates to CRF. 50 μ l of 1×10^8 viable conidia ml^{-1} suspension was directly applied to 10 CRF eggs. 5 replicates per treatment with 10 eggs per individual test vessel were made. Experiments were observed after 7 (egg hatching) and 14 (live larvae counting) days.

The soil experiments mimicked natural exposure pathways of the various insect life stages to the fungal strains. Spore concentrations used in soil tests were comparable to economic rates for in-furrow application (3.85×10^6 spores/g dry soil). Experiments were observed after 14 (rutabaga replacement) and 35 (pupae counting) days.

2.4 Rhizosphere competence experiments

7 most entomopathogenic isolates were further tested for their rhizosphere competence and endophytism in cauliflower (*Brassica oleracea* Botrytis group). Rhizosphere competence was assessed by placing root pieces, washed 3-times with sterile water, on selective media. Endophytism was assessed as EPF growing out of 3-times washed and surface sterilized root pieces.

2.5 Biostimulating effects

Plant weight and mortality was assessed at experiment endpoint to provide information on possible biostimulating effects of the fungal inoculums.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Pathogenicity of the EPF isolates

All isolates tested were infective to one or more of the life stages of cabbage root fly - CRF (eggs, larvae, imago or pupae). Abbott's corrected mortality (Abbott, 1925) ranged from 8.7 ± 5.0 % to 57.6 ± 12.0 % in the short term *in-vitro* experiments and 4.5 ± 13.6 % to 58.4 ± 15.0 % in the soil experiments. For a graphical representation of the results see Figure 1.

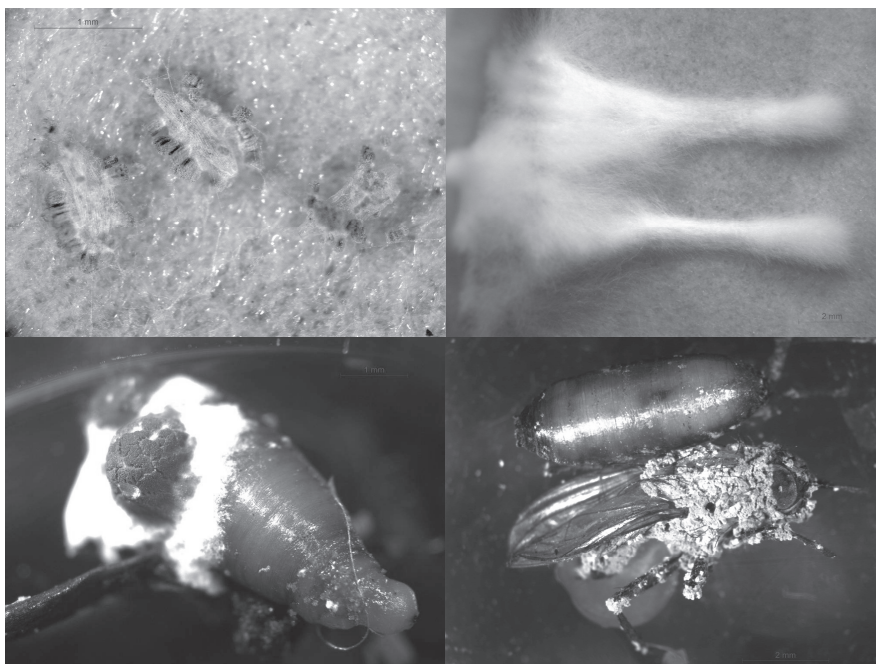


Figure 1: Infection of various cabbage root fly life stages by some of the entomopathogenic fungi tested. Top left: *M. anisopliae* (1868) infected eggs. Top right: *B. bassiana* (1174) infected larva. Bottom left: *M. robertsii* (1880) infected pupa. Bottom right: *M. anisopliae* (1868) infected imago.

Some isolates performed better in *in-vitro* tests, whereas some performed better in soil tests. This is probably because of different ecological preferences of the tested fungi (Scheepmaker and Butt, 2010; Pava-Ripoll et al., 2011). 7 most pathogenic EPF isolates were further tested for their rhizosphere competence and potential biostimulating effects. The selected isolates were: *M. anisopliae* (1154 and 1868), *B. bassiana* (1174), *C. solani* (1828), *T. atroviride* (1873), *T. konigiopsis* (1874) and *T. gamsii* (1876).

3.2 Rhizosphere competence and endophytism

All tested fungal species colonized the rhizoplane (the immediate root surface). All tested fungal species except *M. anisopliae* (1154), *B. bassiana* (1174) and *C. solani* (1828) exhibited endophytic behavior – they were successfully isolated from within plant tissue. All *Trichoderma* spp. isolates (1873, 1874 and 1876) always inhabited plant tissue. *Trichoderma* spp. isolates 1874 and 1876 inhabited all plant tissues (Figure 2).

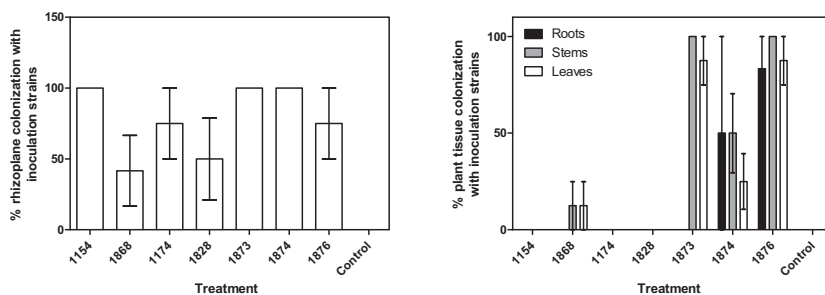


Figure 2: Rhizoplane colonization (left) and endophytism (right) of the seven most entomopathogenic fungal isolates. The isolates tested were: *M. anisopliae* (1154 and 1868), *B. bassiana* (1174), *C. solani* (1828), *T. atroviride* (1873), *T. konigiopsis* (1874) and *T. gamsii* (1876).

242

3.3 Biostimulating effects

B. bassiana (1174) increased plantlet germination and / or survival. Both isolates of *M. anisopliae* (1154 and 1868) and *T. atroviride* (1873) increased biomass production (Figure 3).

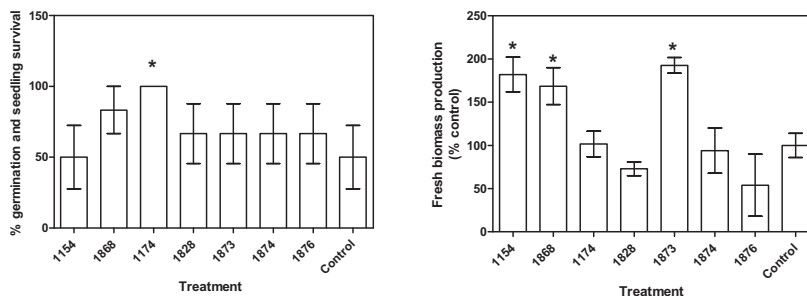


Figure 3: The effect of fungal isolates on germination and seedling survival (left) and fresh biomass production (right). The isolates tested were: *M. anisopliae* (1154 and 1868), *B. bassiana* (1174), *C. solani* (1828), *T. atroviride* (1873), *T. konigiopsis* (1874) and *T. gamsii* (1876).

4 CONCLUSIONS

All 18 fungal isolates tested were infective to one or several pest life stages (eggs, larvae, pupae or flies). The 7 most pathogenic isolates were all found to colonize the rhizoplane successfully – most of them were also able to colonize plant tissue. Additionally, *B. bassiana* (1174) significantly increased germination and seedling survival whereas *M. anisopliae* (isolates 1154, 1868) and *T. atroviride* (1873) significantly increased fresh biomass

production. These isolates (1174, 1154, 1868 and 1873) could be possibly considered as an environmentally friendly alternative for CRF control in conventional or organic farming systems.

5 LITERATURE

- Abbott W.S., 1925. A Method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18, 265-267.
- Bruck D.J., Snelling J.E., Dreves A.J., Jaronski S.T., 2005. Laboratory bioassays of entomopathogenic fungi for control of *Delia radicum* (L.) larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 89, 179–183.
- Harris C.R.; Svec H.J., 1966. Mass rearing of the Cabbage maggot under controlled environmental conditions, with observations on the biology of cyclodiene-susceptible and resistant strains. *Journal of Economic Entomology* 59, 569-573.
- Klingen I., Hajek A., Meadow R., Renwick J.A.A., 2002. Effect of brassicaceous plants on the survival and infectivity of insect pathogenic fungi. *BioControl* 47: 411–425.
- Pava-Ripoll M, Angelini C, Fang W, Wang S, Posada FJ, St Leger R., 2011. The rhizosphere-competent entomopathogen *Metarhizium anisopliae* expresses a specific subset of genes in plant root exudate. *Microbiology* 157, 47-55.
- Scheepmaker J.W.A. & Butt T.M., 2010. Natural and released inoculum levels of entomopathogenic fungal biocontrol agents in soil in relation to risk assessment and in accordance with EU regulations. *Biocontrol Science and Technology* 20, 503-552.
- Thomas M.B., Read A.F., 2007. Can fungal biopesticides control malaria? *Nature Reviews Microbiology* 5, 377 – 383.
- Toledo A.V., Virla E., Humber R.A., Paradell S.L., Lastra C.C., 2006. First record of *Clonostachys rosea* (Ascomycota: Hypocreales) as an entomopathogenic fungus of *Oncometopia tucumana* and *Sonesimia grossa* (Hemiptera: Cicadellidae) in Argentina. *Journal of Invertebrate Pathology* 92, 7-10.
- Vänninen I., Hokkanen H., Tyni-Juslin J., 1999. Attempts to control cabbage root flies *Delia radicum* L. and *Delia floralis* (Fall.) (Dipt., Anthomyiidae) with entomopathogenic fungi: laboratory and greenhouse tests. *Journal of Applied Entomology* 123, 107-113.

SPREMLJANJE POJAVLJANJA IN MOŽNOSTI NAPOVEDOVANJA KAPUSOVE MUHE (*Delia radicum*) V SLOVENIJI

Špela MODIČ¹, Meta URBANČIČ-ZEMLJIČ², Metka ŽERJAV³, Mojca ŠKOF⁴,
Kristina UGRINOVIČ⁵, Jana BOLČIČ⁶, Jaka RAZINGER⁷

^{1,2,3,4,5,7} Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

⁶ KGZS - Zavod GO, Kmetijska svetovalna služba Koper, Koper

IZVLEČEK

Kapusova ali koreninska muha (*Delia radicum* [L.]) je znan in v Sloveniji zelo razširjen škodljivec v pridelavi kapusnic. Namen raziskave je bil preučiti sezonsko dinamiko odlaganja jajčec kapusove muhe v različnih pridelovalnih območjih kapusnic in ugotoviti kako se terenski podatki ujema z napovedmi nemškega simulacijskega modela SWAT. Slednji za napoved dinamike populacije kapusove muhe potrebuje najmanj srednjo dnevno temperaturo zraka. Terenske podatke o odlaganju jajčec smo v letih 2011 in 2012 zbirali na treh lokacijah v dveh podnebno različnih območjih Slovenije: Jablje v osrednji Sloveniji in Kovor na severozahodu pripadata zmernemu celinskemu podnebnju, Bertoki (v 2011) oz. Škofije (v 2012) na jugozahodu pa submediteranskemu podnebnju. Odlaganje jajčec smo spremljali tako, da smo v kapusnicah (cvetača in brokoli) okoli koreninskega vratu mladih rastlin namestili pasti iz filca. Med rastno dobo smo pasti pregledovali tedensko, v času vrha ovipozicije tudi 2-krat tedensko. Prva jajčeca kapusove muhe smo v obeh letih v Jabljah našli v 3. dekadi aprila, v Kovorju pa v 2. dekadi aprila. Na Primorskem je muha začela odlagati jajčeca v 2. dekadi aprila v letu 2011 oz. že v 3. dekadi marca v letu 2012. Prvi vrh ovipozicije je bil v 3. dekadi aprila (Primorska v obeh letih, Kovor v letu 2011) oz. v 1. dekadi maja (Jablje in Kovor v letu 2012). Muha je odlagala jajčeca tudi še v 1. dekadi oktobra, ko smo s spremljanjem prenehali. Rezultati potrjujejo, da ima kapusova muha pri nas tri rodove na leto. Prve primerjave kažejo razmeroma dobro ujemanje terenskih podatkov s simulacijo modela SWAT.

Ključne besede: kapusova muha, *Delia radicum*, ovipozicija, kapusnice, simulacijski model SWAT, Slovenija

ABSTRACT

MONITORING AND FORECASTING POSSIBILITY OF THE CABBAGE ROOT FLY (*Delia radicum*) IN SLOVENIA

The cabbage root fly, *Delia radicum* (L.), is a well known and widespread pest in the production of cole crops in Slovenia. The purpose of this study was to investigate a seasonal dynamics of oviposition of the cabbage root fly in different cole crop production areas and to determine how the field data correspond with the predictions of the German simulation model SWAT. The latter needs at least the mean daily air temperature for the prediction of the

¹ mag., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁵ dr., prav tam

⁶ univ. dipl. inž. agr., Ulica 15. maja 17, SI-6000 Koper

⁷ dr., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

population dynamics of the cabbage root fly. Field data on laying eggs were collected in 2011 and 2012 at three locations in two climatically different regions of Slovenia: Jablje in the central Slovenia and Kovor in the northwest belong to the moderate continental climate, Bertoki (in 2011) and Škofije (in 2012) in the southwest are situated in the sub-Mediterranean climate. The oviposition was monitored by installing a felt trap around the stem base of young plants of the cole crops (cauliflower and broccoli). During the growing season the felt traps were inspected weekly, during the oviposition peak they were inspected twice a week. The first eggs of the cabbage root fly were found in Jablje in the third decade of April and in Kovor in the second decade of April in both years. In Primorska (the littoral region in the southwest of Slovenia) the cabbage root fly started to lay eggs in the second decade of April in 2011 and already in the third decade of March in 2012. The first oviposition peak was in the third decade of April (in both years in Primorska and in 2011 in Kovor) and in the first decade of May (Jablje and Kovor in 2012). The cabbage root fly still laid eggs in the first decade of October when the monitoring was completed. The results obtained confirm that the cabbage root fly in Slovenia has three generations per year. The first comparisons show a relatively high degree of agreement of the field data with the simulation of the SWAT model.

Key words: cabbage root fly, *Delia radicum*, oviposition, cole crops, simulation model SWAT, Slovenia

1 UVOD

245

Kapusnice so v Sloveniji najpomembnejša skupina zelenjadnic, saj jih pridelujemo kar na tretjini vseh zemljišč namenjenih tržni pridelavi zelenjadnic. Eden od pomembnejših škodljivcev, ki občasno povzroči tudi večji izpad v pridelavi kapusnic, je kapusova muha (*Delia radicum*). Še posebej kritično je, kadar se škodljivec pojavi že pri pridelavi sadik ali pa kmalu po presajanju, saj mlade rastline propadejo.

Varstvo pred kapusovo muho je v preteklosti temeljilo na preventivni uporabi talnih insekticidov pred ali takoj po presajanju, po potrebi pa je bilo uporabljeno še dodatno zalivanje oz. škropljenje z insekticidi. Kasneje se je uveljavilo preventivno pomakanje sadik v insekticid pred presajanjem v kombinaciji z dodatnim škropljenjem po potrebi. Trenutno je v Sloveniji za zatiranje kapusove muhe (grizoče žuželke) registriran le lambda-cihalotrin, ki je dovoljen tudi v integrirani pridelavi kapusnic.

Natančno poznavanje pojavljanja kapusove muhe je ključno tako pri odločitvi o potrebi po zatiranju kot tudi za pravočasnost ukrepanja. Čeprav je bilo že v preteklosti poudarjeno, da je zatiranje škodljivca smiselno le kadar je preseženo kritično število, se pri nas prognoza naleta kapusove muhe še ne izvaja.

V zadnjem desetletju je bilo proučevanih že veliko različnih metod za spremljanje odraslih osebkov kapusove muhe ali odloženih jajčec (Meadov, 2003). Nalet odraslih osebkov kapusove muhe lahko spremljamo z atraktanti kot so alilizotiocianat (glavna aktivna učinkovina gorčičnega olja), etilizotiocianat in druge naravne snovi, ki jih izločajo križnice. Slednje uporabljamo v kombinaciji z lovniimi posodami ali lepljivimi ploščami rumene barve (Finch in Skinner, 1982), na katere namestimo atraktante. Problem, ki se pojavi pri spremljanju odraslih osebkov kapusove muhe je slaba korelacija med naletom muhe in odlaganjem jajčec, na kar vplivajo tudi vremenskih dejavniki. Prav tako so potrebne izkušnje pri identifikaciji samic, katere ločujemo po genitalijah.

Metoda spremljanja odlaganja jajčec na koreninske vratove se je izkazala kot nadvse zanesljiva za neposredno napovedovanje škode Prag zatiranja je dosežen, ko je preseženo kritično število 20 jajčec na 20 rastlin ali na 5 m² (Vrabl, 1986) oziroma 10 jajčec na 10 rastlin (Homes M., osebna komunikacija).

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Odlaganje jajčec kapusove muhe

V letih 2011 in 2012 smo število odloženih jajčec spremljali na a) poskusnem polju Kmetijskega inštituta v Jabljah, b. v Kovorju pri enem od večjih pridelovalcev cvetače in c) v Škofijah in v Bertokih na Primorskem. Za spremljanje odlaganja jajčec smo na posamezno njivo nastavili po 20 pasti iz filca (slika 1), v skupinah po 5, med katerimi je bilo 10 rastlin prostih. Filce smo v nasade kapusnic, večinoma cvetače in brokolija, nastavili konec marca in jih 1-2 krat tedensko pregledovali vse do konca rastne dobe.



246

Slika 1: Past iz filca za spremljanje kapusove muhe (naročeno pri Ateliers Olbis, Ch. de Rionzi 61, CH - 1052 Le Mont/Lausanne – Suisse).

2.2 Spremljanje odraslih osebkov kapusove muhe

V letu 2011 smo poleg odlaganja jajčec spremljali tudi ulove imagov muhe v vodne pasti z uporabo lahkolapnih atraktantov (slika 2). Uporabili smo dva tipa pasti: svetlorumene 'McPhail' pasti in temnorumene pasti za mediteransko muho. Kot atraktante smo uporabili etilizotiocianat (EC), alilizotiocianat (AC) ali njuno mešanico (EC+AC). Atraktante smo dodajali v preluknjanih 2 ml mikrocentrifugirkah. Atraktante smo dodali po 1 ml, razen pri mešanici, kjer smo dodali vsakega po 0,5 ml. Za kontrolo smo dodali 1 ml destilirane vode. Atraktane smo dodajali po potrebi v približno tedenskih ali desetdnevnikih razmakih. Pasti smo postavili na polje 11.04.2011.



Slika 2: Namestitve vodnih pasti z atraktanti za kapusovo muho na polje v Kovorju, 2011.

2.3 Model SWAT

SWAT je nemški model za simuliranje populacijske dinamike kapusove muhe, ki na podlagi vremenskih podatkov simulira razvoj muhe. Vhodni podatki modela so srednje dnevne temperature na višini 2 m, dolgoletni podatki o srednjih dnevni temperaturah (če so na voljo) ter podatki o prognozi vremena. Poleg srednjih dnevni temperatur je v model mogoče vključiti tudi podatke o talni temperaturi na globini 5 cm. Glede na raziskave je upoštevanje talnih temperatur smiselno samo do konca aprila, kasneje pa ne več. Od maja dalje model SWAT upošteva samo temperature zraka. Opcijsko se lahko v simulacijski model vključi tudi podatke o hitrosti vetra, saj je znano, da močnejši vetrovi otežujejo let odraslih muh.

S pomočjo modela lahko pridelovalce pravočasno opozorimo na obdobja, ko je nevarnost za odlaganje jajčec večja, da takrat intenzivirajo opazovanja na poljih oziroma pravočasno ukrepajo.

Model omogoča tudi vnos z monitoringom pridobljenih podatkov o številu jajčec odloženih na vabe. Poleg tega omogoča tudi primerjavo v opazovanjih pridobljenih podatkov z simulacijo na podlagi vremenskih podatkov.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Rezultati spremljanja odlaganja jajčec kapusove muhe v letih 2011 in 2012

3.1.1 Odlaganje jajčec v Kovorju

- Prvi rod je dosegel vrh odlaganja jajčec konec aprila in je bil najštevilčnejši oziroma v 1. dekadi maja v letu 2012.
- Drugi rod je dosegel vrh odlaganja jajčec v začetku julija.
- Tretji rod pa je imel vrh odlaganja jajčec v začetku septembra.
- Muha je odlagala jajčeca skozi celo rastno dobo cvetače, toda glede na vremenske razmere, iz grafa za leto 2012, ni mogoče razbrati, kdaj je bilo odlaganje jajčec kapusove muhe najintenzivnejše. Muha je odlagala jajčeca tudi še v 1. dekadi oktobra, ko smo spremljanje zaključili.

3.1.2 Odlaganje jajčec v Jabljah

- Prvi rod se je pojavil v 1. dekadi maja.
- Drugi rod pa v 2. dekadi julija, ko je bil tua di najštevilčnejši.
- Tretji rod smo ugotovili v septembru, katerega vrh smo zaznali v 3. dekadi septembra 2012.
- Ugotovili smo da je drugi rod v Jabljah številčnejši napram prvemu rodu v Kovorju.

3.1.3 Odlaganje jajčec na Primorskem

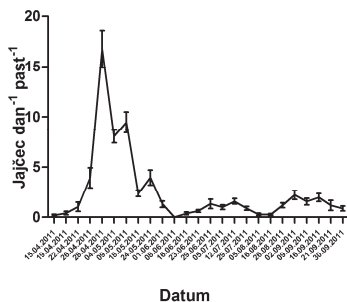
Na Primorskem se je v letu 2011 muha začela odlagati jajčeca v 2. dekadi aprila oziroma že v 3. dekadi marca v letu 2012. Prvi vrh ovipozicije je bil v 3. dekadi aprila.

3.2 Spremljanje naleta kapusove muhe v Kovorju v letu 2011

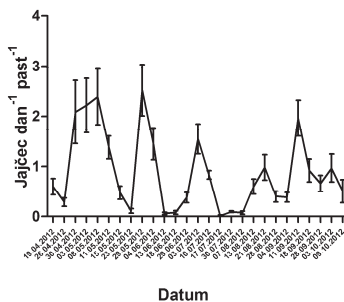
Kot najboljši atraktant se je izkazal alilizotiocianat (glavna aktivna učinkovina gorčičnega olja). Po padajoči uspešnosti so si sledili kombinacija atraktantov alilizotiocianat +

etilizotiocianat, samo etilizotiocianat. V kontrolni skupini (brez atraktanta) smo našli najmanj *D. radicum*.

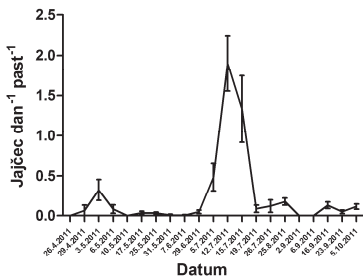
Odlaganje jajčec *D. radicum* Kovor 2011



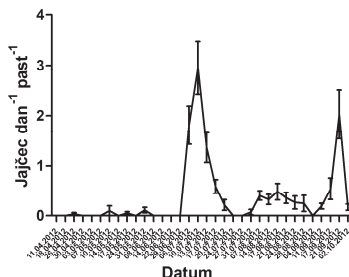
Odlaganje jajčec *D. radicum* Kovor 2012



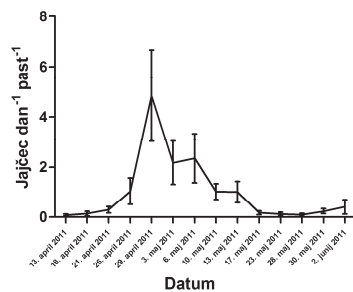
Odlaganje jajčec *D. radicum* Jablje 2011



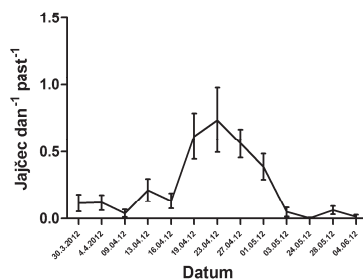
Odlaganje jajčec *D. radicum* Jablje 2012



Odlaganje jajčec *D. radicum* Bertoki 2011



Odlaganje jajčec *D. radicum* Škofije 2012



Slika 3: Grafični prikaz spremljanja odlaganja jajčec kapusove muhe v letih 2011 in 2012 po lokacijah v Sloveniji.

3.3 Model SWAT

Na sliki 4 so podatki iz Kovorja za leto 2012. Ujemanje krivulj je dobro, modelna simulacija vrha je malo pred dejanskim vrhom. To je v redu, saj imajo pridelovalci tako vmes čas, da pravočasno ustrezno ukrepajo.

4 SKLEPI

Spremljanje odlaganja jajčec kapusove muhe s pomočjo pasti iz filca se je pokazalo kot zelo praktično in uporabno pri ugotavljanju ogroženosti posevkov kapusnic pred tem škodljivcem. Dvoletni rezultati načrtnega spremljanja odlaganja jajčec kapusove muhe potrjujejo, da ima muha pri nas tri rodove na leto ter da se pojavljanje posameznih rodov na različnih območjih Slovenije nekoliko razlikuje.

Primerjave podatkov zbranih z opazovanji z napovedjo simulacijskega modela SWAT kažejo dobro ujemanje. Model SWAT bo zato v prihodnje lahko v pomoč pri napovedi pojavljanja kapusove muhe.

5 ZAHVALA

Zahvaljujemo se Martinu Hommesu, z Julius Kühn inštituta v Nemčiji za vse praktične nasvete in dovoljenje za uporabo modela SWAT.

Raziskava je bila izvedena s pomočjo sredstev 7. okvirnega programa EU (FP7/2007-2013), v okviru projekta PURE (številka pogodbe 265865).

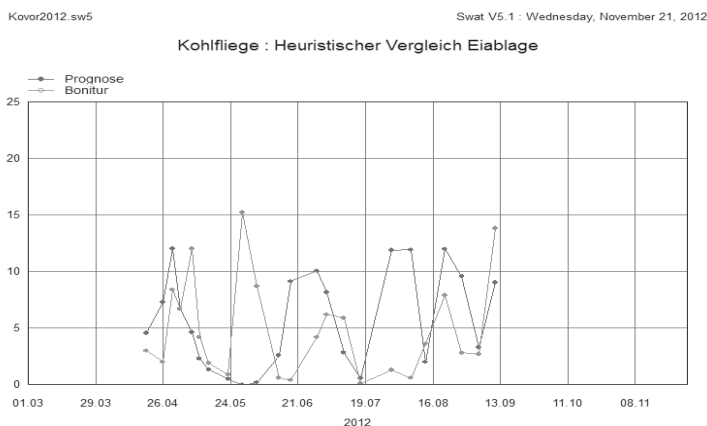
6 LITERATURA

Meadow, R. 2003. Monitoring root flies in *Brassicae* - recent developments. In: Integrated control in field vegetable crops. IOBC wprs Bulletin 26, 3: 13-16

Finch, S., Skinner, G. 1982. Trapping female cabbage root flies (*Delia radicum* (L.)) (Diptera:Anthomyiidae) with allylisothiocyanate-baited traps. Bulletin of Entomological Research, 72: 165-173

Vrabl S. 1986. Posebna entomologija. Škodljivci poljščin. UEK, BF, Ljubljana: 145 str.

249



Slika 4: Podatki iz Kovorja za leto 2012. Z zeleno barvo je prikazana dinamika odlaganja jajčec kot ga prognozira model, z rumeno barvo pa dejanski ulovi jajčec na vabe.

JE Z MEŠANICAMI KRIŽNIC KOT PRIVABILNIMI RASTLINAMI MOGOČE ZMANJŠATI ŠKODLJIVOST KAPUSOVIH BOLHAČEV (*Phyllotreta* spp.) NA ZELJU?

Tanja BOHINC¹, Stanislav TRDAN²

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

IZVLEČEK

Dvoletni poljski poskus (2009-2010), kjer smo preučevali obseg škodljivosti kapusovih bolhačev na štirih različnih vrstah križnic, je potekal na dveh lokacijah v Sloveniji. Poskus je temeljil na preizkušanju krmne ogrščice, bele gorjušice in oljne redkve kot potencialnih privabilnih posevkov za kapusove bolhače, z namenom varovanja zelja. Na obeh lokacijah smo potrdili signifikanten vpliv vrste križnice na dozvetnost hranjenja omenjenih žuželk. Ugotavljamo, da je bil obseg poškodb na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani v letu 2009 najmanjši na kultivarju 'Tucana' ($1,85 \pm 0,03$), prav tako je bil obseg poškodb na omenjenem kultivarju najmanjši na Gorenjskem. V letu 2010 med izbranimi kultivarjema zelja na Gorenjskem nismo ugotovili signifikantnih razlik. Na obeh lokacijah smo v obeh letih poskusa prvi pojav poškodb opazili v prvi polovici maja. Rezultati raziskave so dokaz, da lahko z metodo privabilnih posevkov uspešno nadzorujemo pojav kapusovih bolhačev na glavnem posevku – dveh kultivarjih zelja, zgodnjem in srednje poznem. Kljub temu pa večji aplikativni pomen metode pripisujemo v pridelavi srednje poznega zelja. Med preizkušanimi privabilnimi posevki ne moremo izpostaviti vrste, ki bi intenzivno privabljala škodljivce prek cele rastne dobe, zato za implementacijo v okoljsko sprejemljive sisteme pridelave zelja predlagamo setev mešanih posevkov, kjer bi vsaka od treh križnic privabljala kapusove bolhače v določenem obdobju rastne dobe.

Ključne besede: alternativne metode varstva rastlin, kapusovi bolhači, metoda privabilnih posevkov, *Phyllotreta* spp., zelje

ABSTRACT

IS SOWING MIXTURES OF DIFFERENT *Brassica* SPECIES AS TRAP CROPS EFFECTIVE AGAINST CABBAGE FLEA BEETLE (*Phyllotreta* spp.) ATTACK TO CABBAGE?

A two-year field experiment (2009-2010), where we studied the extent of damage done by flea beetles on four different *Brassica* species, was held at two locations in Slovenia. The entire experiment was based on testing oil rape, white mustard and oilseed radish as potential trap crops to protect cabbage from cabbage flea beetles. We detected significantly high impact of different *Brassica* species on cabbage flea beetle's feeding. At the Laboratory Field of Biotechnical Faculty (Ljubljana) the lowest level of injuries caused by *Phyllotreta* spp. was in 2009 detected on 'Tucana' (1.85 ± 0.03) cabbage cultivar. It was also the least susceptible at the second location (Gorenjska region). In 2010, there was no significant difference in injury level detected between selected cultivars grown in Gorenjska region. The initial damage caused by *Phyllotreta* spp. occurred in the 1st half of May, respectively. Trap

¹ dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana, e-mail: tanja.bohinc@bf.uni-lj.si

² prof. dr., prav tam

cropping as plant protection method proved to be effective against appearance of cabbage flea beetle on main crop – two cabbage cultivars, early and mid-late cabbage cultivars. Superior role of trap cropping is possible in fields where mid-late cabbage is grown, due to higher susceptibility of cultivars. Due to a fact, that none of evaluated trap crops proved to be highly susceptible, we recommend sowing mixtures of trap crop for cabbage production. This way each of three *Brassica* species would attract *Phyllotreta* spp. during particular part of growing season.

Key words: alternative plant protection method, cabbage, cabbage flea beetles, *Phyllotreta* spp., trap cropping

1 UVOD

Pridelava hrane in krme je v zadnjih letih vse bolj osredotočena na metode varstva rastlin, kjer je negativen vpliv na okolje kar se da majhen (Gomes *et al.*, 2012). S tem razlogom alternativne metode v varstvu rastlin pridobivajo na pomenu, eden od vzrokov za to pa je tudi dejstvo, da je število registriranih sintetičnih pripravkov za zatiranje škodljivcev vse manjše (Seznam registriranih ..., 2013). V varstvu rastlin pred škodljivimi organizmi postajata vse bolj uporabni metodi vmesnih (Hummel *et al.*, 2010) in privabilnih posevkov (Bohinc in Trdan, 2012).

Zelje (*Brassica oleracea* L. convar. *capitata* [L.] Alef. var. *alba* DC) predstavlja v Evropi eno od pomembnejših vrst vrtnin in je izpostavljeno napadom širokega spektra škodljivcev (Trdan *et al.*, 2006). Kapusovi bolhači (Coleoptera: Chrysomelidae) so dolgo časa predstavljali eno od ključnih skupin škodljivcev na kapusnicah, zato pojav rezistence na nekatere insekticide pri njih ne preseneča (Trdan *et al.*, 2005). Prehranjevanje kapusovih bolhačev na mladih rastlinah lahko vpliva na propad rastlin (Palaniswamy in Lamb, 1992), pojavljanje teh škodljivcev v poznejših razvojnih stadijih pa kot posledica neenakomerne rasti rastlin, zmanjšane količina semena idr. lahko vpliva na manjšo količino ali kakovost pridelka (Tansey *et al.*, 2009).

Uporaba metode privabilnih posevkov je eden od načinov, s katerimi lahko zmanjšamo uporabo insekticidov, obenem pa ohranjamo populacije škodljivcev pod pragom gospodarske škode (Trdan *et al.*, 2005). Nekatere privabilne rastlinske vrste iz družine križnic so se doslej izkazale za uspešne pri zmanjševanju intenzivnosti prehranjevanja kapusovih bolhačev (Trdan *et al.*, 2005), kapusovega molja (Musser *et al.*, 2005) in kapusovih stenic (Bohinc in Trdan, 2012) na zelju, a doslej v tej zvezi še ni bil najden idealen kandidat.

Namen naše raziskave je bil preučiti preferenco kapusovih bolhačev do zelja, krmne ogrščice, oljne redkve in bele gorjušice, da bi med slednjimi tremi določili najustreznejši privabilni posevek za varovanje zelja pred preučevanimi škodljivci.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Lokacija in shema poljskega poskusa

Dveletni poljski poskus (2009-2010) je potekal na dveh lokacijah; na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani (46°04'N zemljepisne širine, 14°31'E zemljepisne dolžine, 300 m nadmorske višine) (lokacija 1) in v vasi Zgornja Lipnica na Gorenjskem (46°19' N zemljepisne širine, 14°10' E zemljepisne dolžine, 511, 2 m nadmorske višine) (lokacija 2). V poskusu smo kot privabilne posevke uporabili belo gorjušico (*Sinapis alba* [L.]), cv. Zlata (dobavitelj: Semenarna Ljubljana, d. d., Ljubljana, Slovenija), krmno ogrščico (*Brassica napus* [L.] ssp. *oleifera* f. *biennis*), cv. Daniela (dobavitelj: Semenarna Ljubljana, d. d.,

Ljubljana, Slovenija) in oljno redkev (*Raphanus sativus* [L.] var. *oleiformis*), cv. Apoll (dobavitelj: Semenarna Ljubljana, d. d., Ljubljana, Slovenija).

Intenzivnost hranjenja kapusovih bolhačev smo preučevali na zgodnjem ('Tucana F1'; rastna doba: 60 dni; dobavitelj: Semenarna Ljubljana, d.d., Ljubljana, Slovenija) in srednjepoznem kultivarju zelja ('Hinova F1'; rastna doba: 120 dni; dobavitelj: Bejo Seeds, Inc., Warmenhuizen, Nizozemska).

Postavitev poljskega poskusa je opisana v Bohinc in Trdan (2012). Njiva z velikostjo 528 m² je bila razdeljena na 4 bloke v velikosti 11 x 12 m. Poljski poskus je na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete potekal na njivi z velikostjo 234 m². Omenjeno zemljišče smo razdelili na 4 bloke, vsaj je bil velik 4,5 x 13 m. Znotraj blokov smo v ločenih obravnavanjih posejali zgoraj omenjene privabilne posevke, Četrto obravnavanje je bilo kontrola (gola površina). Setev privabilnih posevkov smo v letu 2009 izvedli 15. aprila, v letu 2010 pa 19. aprila. Zelje smo sadili 20. aprila 2009 in 25. aprila 2010.

2.2 Ocenjevanje poškodb

Poškodbe kapusovih bolhačev smo na privabilnih posevkih in zelju ocenjevali v približno 10-dnevnih intervalih. V prvem letu poskusa smo na Laboratorijskem polju izvedli 6 ocenjevanj, na njivi na Gorenjskem pa 13. V letu 2010 pa smo na lokaciji v Ljubljani izvedli 9 ocenjevanj v različnih terminih, v Zgornji Lipnici pa 14. Zaradi lažje obdelave podatkov smo za označevanje terminov ocenjevanja določili različne okrajšave: tako 1#Maj predstavlja prvih deset dni maja, 2#Maj predstavlja drugih deset dni maja, 3#Maj predstavlja tretjih deset dni maja, 1#Jun predstavlja prvih deset dni junija, 2#Jun predstavlja drugih deset dni junija, 3#Jun predstavlja tretjih deset dni junija, 1#Jul predstavlja prvih deset dni julija, 2#Jul predstavlja drugih deset dni julija, 3#Jul predstavlja tretjih deset dni julija, 1#Avg predstavlja prvih deset dni avgusta, 2#Avg predstavlja drugih deset dni avgusta, 3#Avg predstavlja tretjih deset dni avgusta, 1#Sep predstavlja prvih deset dni septembra in 2#Sep predstavlja drugih deset dni septembra.

Za ocenjevanje poškodb kapusovih bolhačev smo uporabili 5-stopenjsko lestvico EPPO (OEPP/EPPO, 2002). Omenjena lestvica predstavlja obseg poškodb, ki je rangiran od 1 (brez poškodb) do 5 (več kot 25 % poškodovane listne površine). Ocena 2 predstavlja do 2 % poškodovane listne površine, ocena 3 med 3 in 10 % poškodovane listne površine, z 4 pa je ovrednoteno med 11 in 25 % poškodovane listne površine. Razvojne stadije privabilnih posevkov smo določevali z lestvico BBCH za ocenjevanje razvojnih stadijev oljne ogrščice (Weber in Bleiholder, 1990; Lancashire *et al.*, 1991), razvojne stadije zelja pa z lestvico BBCH za ocenjevanje listnatih zelenjadnic, ki oblikujejo glavo (Feller *et al.*, 1995) (Growth stages ..., 2001). Posamezni razvojni stadiji so opisani v Bohinc in Trdan (2013).

2.3 Statistična obdelava podatkov

Vpliv posameznih dejavnikov na obseg poškodb *Phyllotreta* spp. smo pojasnili z uporabo Kruskal-Wallisovega testa. Z Bartlettovim testom smo preverili homogenost varianc. Razlike v povprečnih indeksih poškodb med posameznimi rastlinskimi vrstami smo ovrednotili z analizo varianc (ANOVA) in Student-Newman-Keulsovim testom mnogoterih primerjav ($P \leq 0,05$). Omenjene analize smo izvedli s programom Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics Centurion, 2009).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Povprečni indeksi poškodb kapusovih bolhačev v 2009

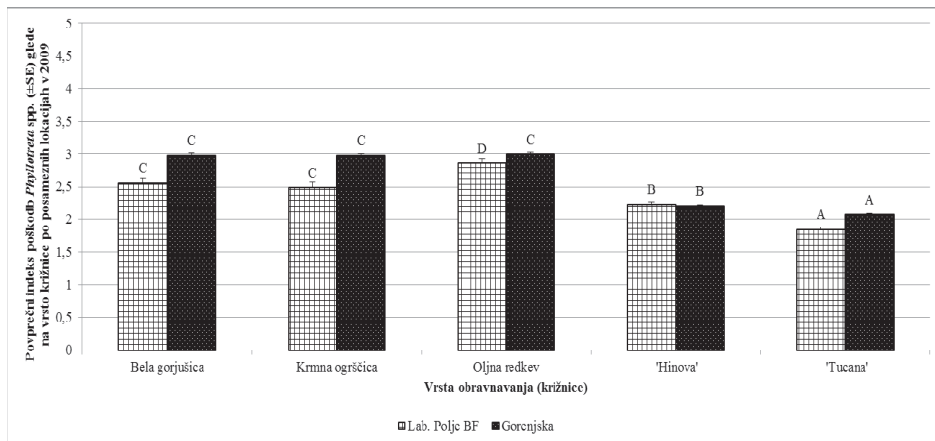
Glede na podatke generalne analize pridobljene na lokaciji 1 lahko trdimo, da je obseg poškodb kapusovih bolhačev signifikatno pogojen s terminom ocenjevanja ($H=273,78$; $Df=5$;

$P < 0,05$), vrsto križnice ($H=173,17$; $Df=4$; $P < 0,05$) in razvojnim stadijem rastlin ($H=261,75$; $Df=36$; $P < 0,05$).

Rezultati generalne statistične analize podatkov, pridobljenih na lokaciji 2, nam potrjujejo, da je na intenzivnost hranjenja kapusovih bolhačev signifikatno vplival termin ocenjevanja ($H=1153,48$; $Df=13$; $P < 0,05$), vrsta križnice (obravnavanje) ($H=1037,88$; $Df=4$; $P < 0,05$). Intenzivnost poškodb pa je pogojena tudi z razvojnim stadijem rastline ($H=1555,88$; $Df=59$; $P < 0,05$).

Na lokaciji 1 smo signifikatno najnižji indeks poškodb ugotovili na kultivarju 'Tucana' ($1,85 \pm 0,03$), medtem ko je bil povprečni indeks na oljni redkvi signifikatno najvišji ($2,87 \pm 0,07$). Na beli gorjušici smo na lokaciji 1 zabeležili nižji obseg poškodb ($2,56 \pm 0,08$) kot na lokacija 2 ($2,98 \pm 0,04$). Prav tako je bil obseg poškodb na krmni ogrščici nižji na lokaciji 1 ($2,49 \pm 0,08$) kot na lokaciji 2 ($2,98 \pm 0,03$). Obseg poškodb na kultivarju 'Hinova' smo na lokaciji 1 ovrednotili kot $2,22 \pm 0,03$, medtem ko je bil obseg poškodb na lokaciji 2 ovrednoten kot $2,21 \pm 0,01$. Na lokaciji 1 značilnih razlik v obsegu poškodb med belo gorjušico ($2,98 \pm 0,04$), krmno ogrščico ($2,98 \pm 0,03$) in oljno redkvijo ($3,0 \pm 0,03$) nismo ugotovili (slika 1).

253



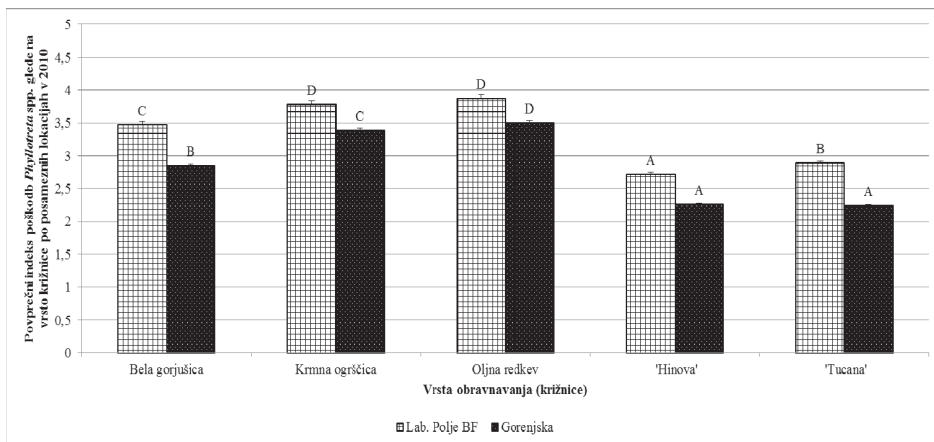
Slika 1: Povprečni indeks poškodb *Phyllotreta* spp. (\pm SE) glede na različne vrste križnic po posameznih lokacijah v letu 2009.

Figure 1: Level of injury caused by *Phyllotreta* spp. (\pm SE) according to different Brassica species and different locations in 2009.

V prvem terminu ocenjevanja (2#Maj) na lokaciji 1 smo signifikatno najnižji obseg poškodb ugotovili na kultivarju 'Tucana' ($1,00 \pm 0,00$), medtem ko je najvišji zabeležen na rastlinah krmne ogrščice ($2,25 \pm 0,25$) (BBCH 12-13) in oljne redkve ($2,25 \pm 0,25$) (12-13). Krmna ogrščica se je za najbolj dovzetno za hranjenje *Phyllotreta* spp. izkazala v omenjenem časovnem terminu tudi na lokaciji 2. Medtem ko povprečni indeksi poškodb na krmni ogrščici variirajo od $2,28 \pm 0,08$ v 2#Maj do $3,12 \pm 0,07$ v 1#Jul do $3,16 \pm 0,06$ v zadnjih petih terminih ocenjevanja, pa smo na rastlinah oljne redkve v zadnjih 4 terminih zabeležili obseg poškodb v indeksu $3,28 \pm 0,08$. V zadnjih 4 terminih ocenjevanja smo na rastlinah privabilnih posevkov zabeležili signifikatno višje indekse kot na rastlinah kultivarja 'Hinova'.

3.2 Povprečni indeks poškodb kapusovih bolhačev v 2010

Ugotavljamo, da je na intenzivnost poškodb na lokacija 1 signifikantno vplival termin ocenjevanja ($H=418,20$; $Df=$; $P<0,05$) kot tudi vrsta križnice ($H=358,08$; $Df=4$; $P<0,05$). Obseg poškodb pa se razlikuje tudi glede na razvojno fazo ($H=672$; $Df=51$; $P<0,05$). S pomočjo generalne statistične analize podatkov pridobljenih na lokaciji 2 smo ugotovili, da je na povprečni indeks poškodb vplival termin ocenjevanja ($H=1599,09$; $Df=$; $P<0,05$), vrsta križnice ($H=1628,77$; $Df=4$; $P<0,05$) in razvojni stadij rastlin ($H=2410,65$; $Df=54$; $P<0,05$). Povprečni indeks poškodb na lokaciji 1 je bil signifikantno najnižji na kultivarju 'Hinova' ($2,72\pm 0,03$), medtem ko je povprečni indeks poškodb na kultivarju 'Tucana' znašal $2,89\pm 0,03$. Med vrstami privabilnih posevkov smo signifikantno najnižji obseg poškodb ugotovili na beli gorjušici ($3,47\pm 0,05$), najvišjega pa na oljni redkvi ($3,87\pm 0,06$). Na lokaciji 2 (slika 2) smo med vrstami privabilnih posevkov ugotovili signifikantno najnižji indeks na rastlinah krmne ogrščice ($3,39\pm 0,03$), najvišjega pa na rastlinah oljne redkve ($3,50\pm 0,04$).



Slika 2: Povprečni indeks poškodb *Phyllotreta* spp. (\pm SE) glede na različne vrste križnic po posameznih lokacijah v letu 2010.

Figure 2: Level of injury caused by *Phyllotreta* spp. (\pm SE) according to different Brassica species and different locations in 2010.

Obseg poškodb na srednje poznem kultivarju zelja je v letu 2010 na lokaciji 1 variiral od $2,05\pm 0,08$ v prvem terminu ocenjevanja do $3,16\pm 0,09$ v zadnjem in predzadnjem terminu ocenjevanja; na drugi strani smo signifikantno najvišji obseg poškodb na zgodnjem hibridu zelja zabeležili v 1#Jun ($3,26\pm 0,08$) in 2#Jun ($3,26\pm 0,07$). V času, ko je bil povprečni indeks poškodb na srednjem poznem hibridu zelja signifikantno najvišji (1#Jun), smo pri rastlinah oljne redkve zabeležili razvojni stadij podaljševanja stebela (BBCH 30-35), pri rastlinah bele gorjušice se faza podaljševanja stebela končala (BBCH 39) in se je pričelo pojavljati socvetje (BBCH 50); rastline krmne ogrščice pa so bile v fazi razvijanja listov (BBCH 14-16). V zadnjem terminu ocenjevanja (3#Jul) so bile rastline oljne redkve v fazi polnega cvetenja (BBCH 65), obenem pa je bil v omenjenem časovnem terminu obseg poškodb kapusovih bolhačev signifikantno najvišji ($4,87\pm 0,08$).

Najnižji obseg poškodb na zgodnjem in srednje poznem hibridu zelja smo na lokaciji 2 opazili v času razvijanja listov (BBCH 10-19), obenem pa je bil obseg poškodb na rastlinah krmne ogrščice (BBCH 10-19), bele gorjušice (BBCH 10-19) in oljne redkve (BBCH 10-19)

signifikatno višji. V terminu (3#Jul), ko smo na oljni redkvi zabeležili signifikatno najvišji obseg poškodb in ko se je cvetenje rastlin že zmanjševalo (BBCH 67), je bil povprečni obseg poškodb na preostalih vrstah privabilnih posevkov, kot tudi na preučevanih hibridih zelja, signifikatno nižji. V omenjenem časovnem intervalu so rastline bele gorjušice že dosegale fazo razvoja plodu (BBCH 71-73), medtem ko se je pri krmni ogrščici končala faza podaljševanja socvetja (BBCH 39) in se je začelo pojavljati socvetje (BBCH 50).

Rezultati naše raziskave prikazujejo izrazito preferenco kapusovih bolhačev (*Phyllotreta* spp.) do določene vrste križnic (Štolcová, 2009; Bohinc in Trdan, 2012). Opažamo, da je bela gorjušica najhitreje dosegla fazo zorenja (BBCH 80-89) (Hassan in Arif, 2012), obenem pa se je njena dovzetnost za napad kapusovih bolhačev ni manjšala. Nizka dovzetnost bele gorjušice za poškodbe *Phyllotreta* spp. v začetku rastne dobe je še izrazito poudarjena leta 2009 na Gorenjskem. Tako lahko povzamemo, da je razvojni stadij rastlin eden od pomembnih dejavnikov inzenzivnosti prehranjevanja žuželk (Bohinc in Trdan, 2012). Opažamo, da je bela gorjušica najhitreje dosegla fazo zorenja (BBCH 80-89) (Hassan in Arif, 2012), obenem pa se je njena dovzetnost za napad kapusovih bolhačev ni manjšala.

Rastline privabilnih posevkov na Gorenjskem so bile za poškodbe kapusovih bolhačev najbolj dovzetne v času cvetenja (BBCH 60-67), medtem ko so rastline glavnega posevka prehajale v fazo razvoja vegetativnih delov rastlin, primernih za pridelek. Prehranjevanje kapusovih bolhačev na cvetovih rastlin, je bilo zabeleženo že v drugih raziskavah (Leavitt in Robertson, 2006).

Za Slovenijo je značilen izrazitejši pojav populacije preučevane skupine škodljivcev v prvih dneh julija (Trdan *et al.*, 2008). Vse do konca tega meseca postaja njihovo hranjenje vse intenzivnejše, kar se je potrdilo tudi v naši raziskavi, kljub temu, da smo prve poškodbe na obeh lokacijah opazili že v začetku maja. V letu 2010 smo na Laboratorijskem polju v zadnjih 10 dneh maja zabeležili višji indeks poškodb kot na njivi na Gorenjskem, kar pripisujemo tudi višjim povprečnim temperaturam (ARSO, 2012).

255

4 SKLEPI

Kapusovi bolhači se v Sloveniji in v drugih nam bližnjih državah pojavijo v prvi polovici maja (Trdan *et al.*, 2005), kar se kaže tudi v naši raziskavi. Na podlagi rezultatov dveletnega poljskega poskusa lahko trdimo, da je lahko metoda privabilnih posevkov uspešna alternativa insekticidom pri zmanjševanju obsega poškodb kapusovih bolhačev na zelju. Pomen privabilnih posevkov je še posebno izražen ob upoštevanju dejstva, da imamo v Sloveniji za varstvo kapusnic pred napadom vrst iz rodu *Phyllotreta* registriran registriran en insekticid (Seznam registriranih ..., 2013), znano pa je, da lahko močan pojav kapusovih bolhačev na mladih rastlinah kapusnic povzroči propad rastlin (Paliswamy in Lamb, 1992).

S tem, ko smo na isti njivi uporabili več rastlinskih vrst, na katerih se prehranjujejo preučevani škodljivci, se je obseg poškodb v veliki meri porazdelili med rastline privabilnih posevkov (Rämert *et al.*, 2001). Setev privabilnih posevkov pred glavnim posevkom nam je omogočila, da smo vrstam *Phyllotreta* spp. ponudili alternativno hrano in tako obvarovali glavni posevek.

Predvidevamo, da bo aplikativna vrednost metode privabilnih posevkov višja v sistemih, ki so namenjene pridelavi kapusnic, ki imajo daljšo rastno dobo. Ker ne moremo z veliko verjetnostjo predlagati idealne vrste za potrebe privabilnih posevkov, bi lahko z uporabo mešanice treh rastlinskih vrst uspešno vplivali na hranjenje kapusovih bolhačev, saj se je uporaba mešanic (mešanih posevkov) (Bandara *et al.*, 2009) v preteklosti že uspešno izkazala kot dejavnik izbire prehranjevanja škodljivih organizmov (Rämert *et al.*, 2002), tudi v primeru prehranjevanja vrste *Phyllotreta cruciferae* Goeze na brokoliju (Garcia in Altieri, 1992).

5 ZAHVALA

Rezultati, predstavljeni v tem prispevku, so bili pridobljeni z raziskovalnim delom na projektu CRP V4-1067, ki sta ga sofinancirala Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije in Ministrstvo za kmetijstvo in okolje. Avtorja se zahvaljujeva Jaki Rupniku, dr. Mateju Vidrihu in dr. Draganu Žnidarčiču ter ostalim, ki so v tem prispevku predstavljeno delo pomagali zaključiti v celoto.

6 LITERATURA

- Agencija Republike Slovenije za okolje. 2013. Republika Slovenija. Ministrstvo za okolje in prostor . <http://www.arso.gov.si> (27.2.2013)
- Bandara, K.A.N.P., Kumar, V., Ninkovic, V., Ahmed, E., Pettersson, J., Glinwood, R. 2009. Can leek interfere with bean plant-bean fly interaction? Test of Ecological pest management in mixed cropping. *Journal of Economic Entomology*, 102, 3: 999-1008.
- Bohinc, T., Trdan, S. 2012. Trap crops for reducing damage caused by cabbage stink bugs (*Eurydema* spp.) and flea beetles (*Phyllotreta* spp.) on white cabbage: fact or fantasy? *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 10, 2: 1365-1370.
- Bohinc, T., Trdan, S. 2013. Sowing mixtures of *Brassica* trap crops is recommended to reduce *Phyllotreta* beetles injury to cabbage, *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Plant Soil Science*, 63, 4: 297-303.
- Garcia, M.A., Altieri, M.A. 1992. Explaining differences in flea beetle *Phyllotreta cruciferae* Goeze densities in simple and mixed broccoli cropping systems as a function of individual behavior. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 62, 3: 201-209.
- Gomes, F.B., Fortunato, L.J., Pacheco, A.L.V., Azevedo, L.H., Freitas, N., Homma, S.K. 2012. Incidência de pragas e desempenho productivo de tomateiro orgânico em monocultivo e policultivo, 30: 756-761. [v portugalsščini]
- Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. BBCH Monograph. 2001. Meier, U. (eds.). 2nd Ed. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry. <http://syntechresearch.hu/sites/default/files/publikaciok/bbch.pdf> (15.01.2013)
- Hassan, F.U., Arif, M. 2012. Response of white mustard (*Sinapis alba* L) to spacing under rainfed conditions. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 22, 1: 137-141.
- Hummel, J.D., Dossall, L.M., Clayton, G.W., Harker, K.N., O'Donovan, J.T. 2010. Responses of the parasitoids of *Delia radicum* (Diptera: Anthomyiidae) to the vegetational diversity of intercrops. *Biological Control*, 55: 151-158.
- Lancashire, P.D., Bleiholder, H., Boom, T. van D., Landelüddeke, P., Strauss, P., Weber, E., Witzemberger, A. 1991. A uniform decimal code for stages of crops and weeds. *Annals of Applied Biology*, 119: 561-601.
- Leavitt, H., Robertson, I.C. 2006. Petal herbivory by chrysomelid beetles (*Phyllotreta* sp.) is determinial to pollination and seed production in *Lepidium papilliferum* (Brassicaceae). *Ecological Entomology*, 31: 657-660.
- OEPP/EPPO. 2002. Guidelines for the efficacy evaluation of insecticides. *Phyllotreta* spp. on rape. *Bull. OEPP/EPPO Bulletin*, 32: 361-365.
- Palaniswamy, P., Lamb, R.J. 1992. Host preferences of the flea beetles *Phyllotreta cruciferae* and *P. striolata* (Coleoptera: Chrysomelidae) for crucifer seedlings. *Journal of Economic Entomology*, 85, 3: 743-752.
- Rämert, B., Hellqvist, S., Ekbo, B., Banks, J.E. 2001. Assessment of trap crops for *Lygus* spp. in lettuce. *International Journal of Pest Management*, 47, 4: 273-276.
- Rämert, B., Lennartsson, M., Davies, G. 2002. The use of mixed species cropping to manage pests and diseases – theory and practice. V: Powel et al. (ur.) *UK Organic Research: Proceeding of the COR Conference, Aberystwyth*, 26.-28. marec 2002, 207-210.
- Statgraphics Centurion XVI. Statpoint Technologies, Inc. – Warrenton, Virginia, 2009
- Seznam registriranih fitofarmaceutskih sredstev na dan 27.2.2013. Uprava RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin. Ministrstvo za kmetijstvo in okolje. <http://spletni2.furs.gov.si/FFS/REGSR/index.htm> (28.2.2013)
- Štolcová, J. 2009. Feeding preferences of *Phyllotreta herbivores* to winter rape and chosen weeds. *Plant Protection Science*, 45,4: 156-160.

- Tansey, J.A., Dosedall, L.M., Keddie, B.A. 2009. *Phyllotreta cruciferae* and *Phyllotreta striolata* responses to insecticidal seed treatments with different modes of action. *Journal of Applied Entomology*, 133,3: 201-209.
- Trdan, S., Valič, N., Žnidarčič, D., Vidrih, M., Bergant, K., Zlatič, E., Milevoj, L. 2005. The role of Chinese cabbage as a trap crop for flea beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in production of white cabbage. *Scientia Horticulturae*, 106,1-3: 12-24.
- Trdan, S., Žnidarčič, D., Valič, N. 2006. Field efficacy of three insecticides against cabbage stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) on two cultivars of white cabbage. *International Journal of Pest Management*. 52, 2: 79-87.
- Trdan, S., Vidrih, M., Bobnar, A. 2008. Seasonal dynamics of three insect pests in the cabbage field in central Slovenia. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*. Ghent University, 73, 3: 557-561.
- Weber, E., Bleiholder, H. 1990. Explanations of the BBCH decimal codes for the growth stage of maize, rape, faba beans, sunflowers and peas – with illustrations. *Gesunde Pflanzen*, 9: 308-321.

IZSLEDKI UGOTAVLJANJA ZASTOPANOSTI PARADIŽNIKOVEGA MOLJA (*Tuta absoluta* Povolny) V SLOVENIJI V OBDOBJU 2009-2012

Ivan ŽEŽLINA¹, Primož PAJK², Branko CARLEVARIS³

¹ KGZS, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica, Nova Gorica

² Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, Uprava RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo
rastlin, Sektor za zdravje rastlin in rastlinski semenski material, Ljubljana

IZVLEČEK

Paradižnikov molj (*Tuta absoluta* Povolny) je invazivna južnoameriška vrsta in na rastlinah (predvsem paradižniku) iz družine razhudnikovk (Solanaceae) lahko povzroča veliko škodo. V Evropi se je paradižnikov molj prvič pojavil v letu 2006, v Sloveniji pa je bil škodljivec prvič ugotovljen v zavarovanih prostorih v letu 2009, od koder se je razširil na vsa območja v Sloveniji, kjer se prideluje paradižnik. Z uporabo feromonskih vab (delta traps) in masovnega lovljenja (mass trapping), smo v letih 2010 - 2012 ugotavljali dejanski pojav in razširjenost škodljivca na pridelovalnih območjih v Sloveniji, čas in dinamiko pojavljanja ter njegovo bionomijo. Spremljali smo zdravstveno stanje na listih in plodovih rastlin paradižnika, iskali poškodbe na drugih potencialnih gostiteljih iz družine razhudnikovk in preučevali možnosti za zatiranje oziroma omejevanje škodljivca. Nekateri podatki kažejo, da paradižnikov molj v Sloveniji predstavlja resno grožnjo predvsem tistim pridelovalcem, ki gojijo paradižnik v rastlinjakih pozno poleti in v začetku jeseni. V prispevku so predstavljeni izsledki posebnega nadzora v letih 2010 – 2012 po posameznih letih in njihova primerjava.

258

Ključne besede: paradižnikov molj, *Tuta absoluta*, načrtno spremljanje, razširjenost, Slovenija

ABSTRACT

THE RESULTS OF DETERMINING THE OCCURRENCE OF TOMATO LEAFMINER (*Tuta absoluta* Povolny) IN SLOVENIA IN THE PERIOD 2009-2012

Tomato leaf miner (*Tuta absoluta* Povolny) is an invasive South American species and could cause extensive damages on plants from family Solanaceae (especially on tomatoes). In Europe it was first time identified in year 2006, its presence was confirmed for the first time in greenhouses in Slovenia in 2009 as well. Now it is widespread on all areas in Slovenia, where tomato production is present. Presence and geographical distribution of tomato leaf miner in Slovenia with help of pheromone traps (delta traps) and mass trapping were examined from 2010 to 2012. During these years the time, dynamics of its appearance and bionomy also has been followed. Possible damage on leaves and fruits of tomato and injuries on potential host plants from family Solanaceae were observed. Some studies of its suppression were done. Some of results in Slovenia show, that tomato leaf miner represent serious threat for farmers who produce fruits of tomato in greenhouses during late summer and early autumn. The results of specific survey of tomato leaf miner in Slovenia in years 2010 – 2012, by single years and its comparison are presented in the article.

Key words: tomato leaf miner, *Tuta absoluta*, monitoring, distribution, Slovenia

¹ dr., Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica

² univ. dipl. inž. agr., Dunajska 22, SI-1000 Ljubljana

³ dipl. inž. agr. in hort., Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica

1 UVOD

Zaradi zagotavljanja zdravstvenega varstva rastlin, obvladovanja škodljivih organizmov, preprečevanja njihovega vnosa in širjenja ter zatiranja v Republiki Sloveniji, je bil v Programu Republike Slovenije za fitosanitarno področje paradižnikov molj opredeljen kot posebej nevaren karantenski škodljivi organizem, nad katerim se izvaja sistematični posebni nadzor, ugotavljanje njegovega pojava in inšpekcijsko spremljanje.

V skladu z odločbo o imenovanju koordinatorjev posebnih nadzorov, predstojnik Uprave Republike Slovenije za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin (pred 1. januarjem 2013 Fitosanitarna uprava Republike Slovenije, v nadaljnjem besedilu: Uprava) za vsako leto pooblasti koordinatore posebnega nadzora, ki v programu ugotavljanja navzočnosti paradižnikovega molja (*Tuta absoluta* Povolny) natančneje navede ostale izvajalce pri nadzoru, namen, kraj in predmet pregleda, opredeli zdravstvenene preglede in uradna vzorčenja ter ustrezno evidentiranje podatkov v podatkovno bazo.

Tako smo na KGZS, zavod Nova Gorica v letih 2010 - 2012 v skladu s 76. členom Zakona o zdravstvenem varstvu rastlin (Uradni list RS, št. 62/07 – ZZVR-1-UPB2 in 36/2010, v nadaljevanju: ZZVR-1) izvajali posebni nadzor in načrtno ugotavljanje pojava paradižnikovega molja v Sloveniji.

Paradižnikov molj ni uvrščen na sezname karantenskih škodljivih organizmov, ki jih določa Direktiva 2000/29/ES, je pa uvrščen na EPPO A2 seznam škodljivih organizmov in na EPPO akcijski seznam (Action list), ki jih EPPO priporoča državam članicam za omejevanje njihovega širjenja. Tudi v Republiki Sloveniji zaradi pojavljanja paradižnikovega molja obstaja velika nevarnost za zdravstveno varstvo nekaterih vrst rastlin iz družine Solanaceae (predvsem paradižnika).

Paradižnikov molj se je v Evropi prvič pojavil v letu 2006 v vzhodnem delu Španije. Po letu 2008 je bil škodljivec ugotovljen v Italiji. V letu 2009 je bil ugotovljen v Franciji, v Bolgariji, na Cipru, v Grčiji, na Malti, na jugu Portugalske, v Švici, na Nizozemskem, na Danskem, na jugovzhodu Anglije ter v Sloveniji. Najden je bil tudi v državah severne Afrike, in sicer v Alžiriji, Maroku, Tuniziji in Libiji.

V državah, kjer je bil škodljivec ugotovljen, lahko povzroči velike škode na sadikah, rastlinah in plodovih paradižnika. Neposredna gospodarska škoda se kaže v izgubi pridelka, posredna pa zaradi manjše ekonomske vrednosti pridelka.

Pojav škodljivca na nekaterih območjih v Sloveniji predstavlja tveganje za pridelavo paradižnika, predvsem v zaprtih prostorih. Ugotovljeno je bilo, da se lahko pojavi ponekod tudi na prostem, kar bi predstavljalo ob predpostavki velikega števila generacij na leto veliko gospodarsko škodo zlasti pri pridelavi plodov.

2 MATERIALI IN METODE

Z načrtnim ugotavljanjem pojava (monitoring) v letih 2010-2012 smo zajeli vzgajališča sadik zelenjadnic (Solanaceae) in nasade paradižnika v zavarovanih prostorih in na nekaterih površinah na prostem.

Ugotavljali smo dejanski pojav in razširjenost škodljivca na pridelovalnih območjih širom Slovenije, čas pojavljanja (pojav prvih osebkov in dinamika pojavljanja v zavarovanem prostoru in na prostem) in primerjava dinamike ulova v letih 2010-2012. Z intenzivnim spremljanjem pojava škodljivca, smo ugotavljali število generacij v zavarovanem prostoru in proučevali bionomijo paradižnikovega molja. Spremljali smo zdravstveno stanje plodov in ugotavljali poškodbe na plodovih paradižnika zaradi določitve praga škodljivosti paradižnikovega molja.

Za spremljanje paradižnikovega molja so bile uporabljene feromonske vabe (Delta traps) proizvajalca Pherobank (v letih 2010 in 2011) ter Tripheron (v letu 2012). Feromonske vabe so bile postavljene v drugi polovici aprila oziroma v maju glede na način pridelave. Na vsaki opazovani lokaciji sta bili postavljeni po 2 pasti (pokrit prostor pri vzgoji sadik paradižnika, pokrit prostor za pridelavo plodov paradižnika) ter po 1 past na prostem po presaditvi sadik paradižnika na njivo). Pasti so bila nameščene 60 do 80 cm nad tlemi (v času postavitve nad rastline paradižnika), ki smo jih postopoma dvigali glede na rast paradižnika. Lepljive plošče smo tedensko zamenjali, kapsule s spolnim feromonom smo zamenjali vsakih 4 do 6 tednov. Pregled feromonskih vab je potekal enkrat tedensko.

Grafično (številčnost in časovna dinamika pojavljanja) so ulovi paradižnikovega molja prikazani v slikah 1, 2, 3 in 4) na opazovanih mestih Bukovica, Orehovlje in Dragonja), kjer se je škodljivec redno in v velikem številu pojavljal v vseh letih monitoringa.

V letih 2010-2012 smo preizkušali tudi metodo masovnega lovljenja (mass trapping) v zavarovanem prostoru in ugotavljali možnosti zmanjševanja populacije z navedeno metodo.

Za izvedbo masovnega lovljenja (mass trapping) paradižnikovega molja smo glede na izkušnje iz prejšnjih let, v letu 2012 preizkušali in uporabljali vodne pasti (water traps) na eni izbrani lokaciji (Sečovlje; ~0,2 ha). Uporabljene so bile enake kapsule (pheromone dispensers proizvajalca Tripheron) kot na navadnih feromonskih vabah (delta traps).

Upoštevali smo pravilno gostoto postavitve: 16-30 vab/ha (v našem primeru 7 vab/0,2 ha v zavarovanem prostoru). Vabe so bile nameščene v bližino rastlin paradižnika (~ 60 cm).

Novost v letu 2012 je bila spremljanje škodljivca z vabami z avtomatičnim odčitavanjem dnevnih ulovov (e-Pest Alert sistem), kaj je omogočilo intenzivno spremljanje pojavnosti škodljivca.

S pomočjo vgrajene kamere in možnostjo pošiljanja podatkov s pomočjo GPRS signala v podatkovno bazo, sistem omogoča dnevno spremljanje ulova ciljnih organizmov, brez fizičnega odčitavanja, kar bistveno pripomore pri ugotavljanju števila generacij paradižnikovega molja v zavarovanem prostoru.

Proučevali smo tudi možnosti za zatiranje oziroma omejevanje paradižnikovega molja v Sloveniji.

260



Slika 1: Vaba z avtomatičnim odčitavanjem dnevnih ulovov (e-Pest Alert sistem).

Vsi pregledi so bili evidentirani v podatkovno bazo, ne glede na rezultat ulova. V primeru prve najdbe ali dvoma oziroma nezanesljive vizualne določitve škodljivca, so bile lepljive plošče z ulovom poslane v pooblaščen laboratorij pri KGZS Zavod GO na potrditev oz. izvedbo determinacije.

Podatki o pregledih so bili vneseni v podatkovno bazo fitosanitarnega informacijskega sistema, ki se vodi pri Upravi.

Preglednica 1: Seznam pooblaščenih organizacij in št. opazovanih mest, kjer se je izvajal posebni nadzor paradižnikovega molja v letih 2010 - 2012.

Območje, Izvajalci	Št. opazovanih mest po posameznih letih		
	2010	2011	2012
Kmetijski inštitut Slovenije	3 opazovana mesta, 1 lokacija za množični ulov	3 opazovana mesta	5 opazovanih mest
KGZS - zavod GO	3 opazovana mesta, 1 lokacija za množični ulov	5 opazovana mesta, 1 lokacija za množični ulov	8 opazovanih mest, 1 lokacija za množični ulov, 1 opazovano mesto z avtomatičnim odčitavanjem
KGZS –zavod MB	4 opazovana mesta	3 opazovana mesta	5 opazovanih mest
KGZS –zavod NM	4 opazovana mesta	3 opazovana mesta	4 opazovana mesta
Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije	4 opazovana mesta	5 opazovanih mest	5 opazovanih mest
FSI Maribor	4 opazovana mesta	2 opazovani mesti	/
FSI Ljubljana	4 opazovana mesta	3 opazovana mesta	/
FSI Murska Sobota	4 opazovana mesta	2 opazovani mesti	/
FSI Nova Gorica	4 opazovana mesta	1 opazovano mesto	/
FSI Novo mesto	4 opazovana mesta	1 opazovano mesto	/
FSI Kranj	4 opazovana mesta	2 opazovani mesti	/
FSI Celje	/	2 opazovani mesti	/
FSI Koper	4 opazovana mesta	2 opazovani mesti	/
SKUPAJ	50 opazovanih mest, 2 lokaciji za množični ulov	34 opazovanih mest, 1 lokacija za množični ulov	34 opazovanih mest, 1 lokacija za množični ulov, 1 opazovano mesto z avtomatičnim odčitavanjem

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V okviru posebnega nadzora paradižnikovega molja (*Tuta absoluta* Povolny) v Sloveniji smo v letu 2010 opravili 1188 pregledov, v letu 2011 844 pregledov in v letu 2012 400 pregledov.

Preglednica 2: Seznam izvajalcev posebnega nadzora, število pregledov in skupno število najdenih osebkov paradižnikovega molja v Sloveniji v letu 2010, 2011 in 2012.

Izvajalci posebnega nadzora	Št. opravljenih pregledov			Skupno št. najdenih osebkov		
	2010	2011	2012	2010	2011	2012
Kmetijski inštitut Slovenije	60	45	57	20	1892	103
KGZS – Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica	99	135	159	415	299	6405
KGZS – Kmetijsko gozdarski zavod Maribor	72	69	93	82	12	10
KGZS – Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto	84	118	24	555	40	107
Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec	125	94	67	45	37	23
FSI Maribor	84	43		698	75	
FSI Ljubljana	116	61		441	86	
FSI Murska Sobota	96	43		19	9	
FSI Nova Gorica	116	26		342	156	
FSI Novo mesto	60	20		45	94	
FSI Kranj	96	40		66	39	
FSI Celje		53			4	
FSI Koper	180	97		5357	1321	
SKUPAJ	1188	844	400	8085	4064	6648

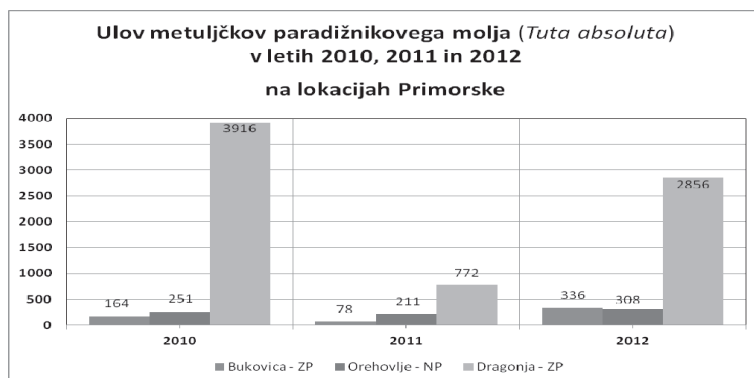
262

V letu 2010 smo v okviru posebnega nadzora paradižnikovega molja ugotovili njegovo zastopanost na celotnem ozemlju Republike Slovenije kjer se prideluje paradižnik, ugotovili smo njegov pojav tudi na prostem (Primorska). V okviru omenjenega nadzora je bilo v letu 2010 na območju celotne Slovenije opravljenih 1188 pregledov. 748 pregledov so opravili fitosanitari inšpektorji, 440 pregledov pa sodelavci pooblaščenih institucij – Kmetijski inštitut Slovenije, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije in območni Kmetijsko gozdarski zavodi Maribor, Nova Gorica in Novo mesto. Najbolj množičen pojav škodljivca smo ugotovili na Primorskem, predvsem v Slovenski Istri (Dragonja, kjer smo z uporabo običajnih feromonskih vab (delta traps), med sezono od 28. aprila 2010 do 29. decembra 2010 ujeli kar 3916 osebkov in vzorčno mesto Krkavče, kjer smo ujeli 800 osebkov). Tudi na nekaterih območjih v notranjosti Slovenije (bližina Novega mesta) smo zabeležili večje število ulovljenih osebkov paradižnikovega molja.

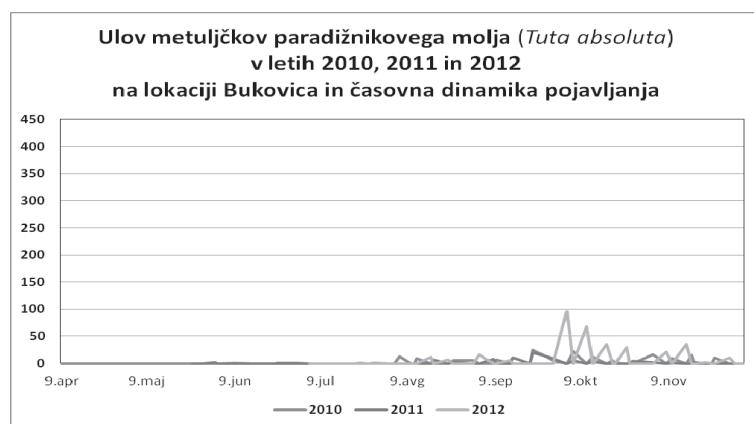
V okviru posebnega nadzora je bilo v letu 2011 opravljenih 844 pregledov. 383 pregledov so opravili fitosanitari inšpektorji, 461 pregledov pa sodelavci pooblaščenih institucij – Kmetijski inštitut Slovenije, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije in območni Kmetijsko gozdarski zavodi Maribor, Nova Gorica in Novo mesto. Najbolj množičen pojav škodljivca smo ugotovili v Ljubljani na opazovanem mestu Zeleni hit v zavarovanem prostoru – 2 lokaciji, kjer se je od 1. julija do 22. novembra 2011, na feromonske vabe ulovilo 1889 osebkov paradižnikovega molja. Zelo množično se je paradižnikov molj lovil na feromonske vabe tudi na dveh opazovanih mestih v Slovenski Istri in sicer na prostem v Portorožu (ulovljenih 549 osebkov) in v zaprtem prostoru v Dragonji (ulovljenih 772 osebkov).

V letu 2012 je bilo skupaj opazovanih 27 lokacij, ena lokacija, kjer smo preizkusili metodo masovnega ulova in lokacija, kjer smo spremljali pojavnost škodljivca s pomočjo vab z avtomatičnim odčitavanjem dnevnih ulovov (e-Pest Alert sistem). Med trajanjem monitoringa na celotnem ozemlju Slovenije smo opravili 400 kontrolnih pregledov feromonskih vab in skupno zabeležili 6648 osebkov paradižnikovega molja.

V največjem številu se je paradižnikov molj lovil na feromonske na dveh opazovanih mestih v Slovenski Istri in sicer na prostem v Luciji (ulovljenih 2083 osebkov) in v zaprtem prostoru v Dragonji (ulovljenih 2856 osebkov). Skupen ulov paradižnikovega molja na omenjenih lokacijah predstavlja kar 74,30% celotnega ulova v Sloveniji v letu 2012. Prve osebe smo ujeli konec maja, največje populacije smo beležili od konca julija dalje, najštevilčnejši ulov pa smo zabeležili konec septembra v oktobru in novembru. Večje število ulovljenih osebkov paradižnikovega molja smo zabeležili še na treh lokacijah na Primorskem in sicer v Orehovljah v bližini Nove Gorice, kjer smo med spremljanjem v zaprtem prostoru zabeležili 308 osebkov, na prostem pa 476 osebkov in v zavarovanem prostoru v Bukovici, kjer smo med spremljanjem zabeležili 336 osebkov. Na celotnem območju Primorske smo v letu 2012 zabeležili 6405 osebkov paradižnikovega molja, kar predstavlja kar 96,30% glede na celotno število vseh ulovljenih osebkov paradižnikovega molja v Sloveniji.



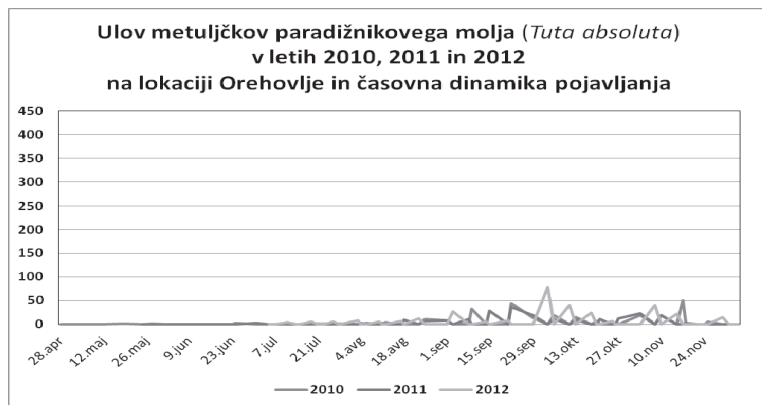
Slika 1: Številčni ulov metuljkov paradižnikovega molja (*Tuta absoluta*) v letih 2010, 2011 in 2012 na lokacijah Bukovica, Orehovlje in Dragonja



Slika 2: Ulov metuljkov in časovna dinamika pojavljanja paradižnikovega molja (*Tuta absoluta*) v letih 2010, 2011 in 2012 na lokaciji Bukovica

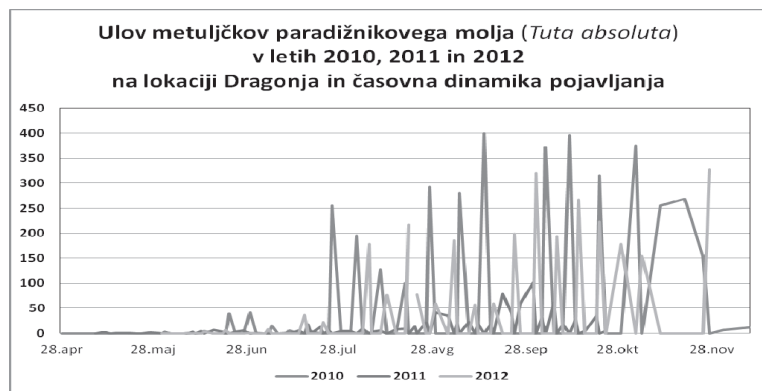
V osrednji Sloveniji so pojav škodljivca spremljali na petih lokacijah, kjer so se na feromonske vabe ulovili 103 osebkov paradižnikovega molja.

Na območju vzhodne Štajerske in Prekmurja je bil ulov paradižnikovega molja majhen, zabeleženih je bilo 10 osebkov. Na območju Dolenjske je bilo na petih opazovanih mestih od začetka julija do konca septembra ujetih 107 osebkov paradižnikovega molja, v Zasavju in Savinjski dolini pa je bilo na petih opazovanih mestih ujetih 23 osebkov.



Slika 3: Ulov metuljkov in časovna dinamika pojavljanja paradižnikovega molja (*Tuta absoluta*) v letih 2010, 2011 in 2012 na lokaciji Orehovlje

264



Slika 4: Ulov metuljkov in časovna dinamika pojavljanja paradižnikovega molja (*Tuta absoluta*) v letih 2010, 2011 in 2012 na lokaciji Dragonja

4 SKLEPI

Posebni nadzor paradižnikovega molja v letih 2010-2012 je potrdil njegov pojav na celotnem območju Slovenije. Najbolj množičen pojav škodljivca je na Primorskem, kjer predstavlja resno grožnjo pridelovalcem paradižnika v zaprtem prostoru in na prostem, na kar kažejo prve poškodbe na plodovih paradižnika v letu 2012 (v zaprtem prostoru in na prostem).

Paradižnikov molj se najbolj množično pojavlja v avgustu, septembru, oktobru, v Slovenski Istri tudi v juliju. Glede na relativno pozen pojav odraslih osebkov, paradižnikov molj ne predstavlja velike nevarnosti za pridelavo sadik v rastlinjaki, vendar pa te lahko predstavljajo vir za prenos škodljivca na še nenapadena mesta pri premeščanju sadik.

Masovno lovljenje (angl. mass trapping) paradižnikovega molja kaže možnosti zmanjševanja populacije po opisanem postopku, vendar je za uspešnost le-tega potrebno zagotoviti razmere, ki so potrebne za izvajanje: zaprt rastlinjak, dovolj široke medvstne razdalje, pravilna oskrba livilnih posod in pripravljenost in usposobljenost osebja, ki navedeno metodo praktično izvaja.

Vaba z avtomatičnim odčitavanjem dnevnih ulovov (e-Pest Alert sistem), ki smo jo kot novost preizkušali v letu 2012 odpira možnost zelo intenzivnega spremljanja leta metuljčkov in s tem natančno poznavanje dinamike pojavljanja škodljivcev.

Za pridelavo paradižnika bo v bodoče potrebno izvajati ustrezne agrotehnične, mehanske, fizikalne, biotične in kemične ukrepe.

Potrebno bo uporabljati insekticidne mreže na odprtinah za ventilacijo, izdelati vhod z dvojnimi vrati, zakrpati luknje na plastenjaki in rastlinjaki, mehansko odstranjevati napadene rastline (liste), uničevati okužen material po zaključenem proizvodnem krogu in uničevati gostiteljske plevelne rastline (pasje zelišče).

Še nadalje bo potreben monitoring s feromonskimi vabami, masovno lovljenje (zagotovljeni ustrezni pogoji), uporaba konfuzije, insekticidnih in svetlobnih vab ter načrtovan vnos ustreznih predatorjev (*Macrolophus* spp., *Nesidiocoris* spp.).

Z ustreznimi kemičnimi ukrepi pa bo potrebno zagotoviti visoko učinkovitost uporabljenih sredstev, zaželeno je kratka karenca, minimalni ali nični ostanki aktivne snovi na plodovih ter zanemarljiv vpliv na čmrlje in druge koristne žuželke.

5 ZAHVALA

Avtorji se vsem, ki so sodelovali pri izvajanju posebnega nadzora paradižnikovega molja najlepše zahvaljujemo.

6 LITERATURA

- Pajk, P., Knapič, V., Marolt, S. 2010. Načrt ukrepov za paradižnikovega molja *Tuta absoluta* Povolny. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, Fitosanitarna uprava RS: 16 str.
- Žežlina, I., Knapič, V. 2010. Letni program ugotavljanja navzočnosti paradižnikovega molja *Tuta absoluta* Povolny – 2010. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, Fitosanitarna uprava RS: 14 str.
- Žežlina, I. 2010. Poročilo o posebnem nadzoru paradižnikovega molja (*Tuta absoluta* Povolny) v Sloveniji za leto 2010. Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica: 20 str.
- Žežlina, I. Carlevaris B. 2011. Poročilo o posebnem nadzoru paradižnikovega molja (*Tuta absoluta* Povolny) v Sloveniji za leto 2011. Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica: 26 str.
- Žežlina, I. Carlevaris B. 2012. Poročilo o posebnem nadzoru paradižnikovega molja (*Tuta absoluta* Povolny) v Sloveniji za leto 2012. Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica: 22 str.

VARSTVO KAPUSNIC PRED ŠKODLJIVCI – STANJE, MOŽNOSTI IN IZZIVI V INTEGRIRANI PRIDELAVI V SLOVENIJI

Kristina UGRINOVIĆ¹, Mojca ŠKOF², Metka ŽERJAV³, Špela MODIČ⁴,
Jaka RAZINGER⁵, Meta URBANČIČ-ZEMLJIČ⁶

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

IZVLEČEK

V prispevku opisujemo trenutno stanje pri pridelavi kapusnic v Sloveniji s poudarkom na obvladovanju škodljivcev. Opozarjamo na najbolj pereče težave povezane s škodljivci kapusnic in predstavljamo obstoječe prakse integriranega varstva pri nas. Predlagamo nekatere možnosti za izboljšanje obstoječih praks ter razpravljamo o pomenu iskanja celovitih rešitev za obvladovanje škodljivcev. Kapusnice so v Sloveniji najbolj razširjena skupina zelenjadnic. V naših ekoloških razmerah pri njihovem varstvu največ težav povzročajo škodljivci, saj se na kapusnicah in njim sorodnih plevelih hrani preko 20 gospodarsko pomembnih fitofagnih vrst. Najpogosteje škodo povzročajo različne vrste bolhačev, (*Phyllotreta* sp.), kapusova muha (*Delia radicum*) in kapusova sovka (*Mamestra brassicae*). Vse bolj razširjeni so kapusov molj (*Plutella xylostella*), kapusova hrčica (*Contarinia nasturtii*) in kapusov ščitkar (*Aleyrodes proletella*). Lokalno oz. občasno pa lahko večje škode povzročajo tudi številni drugi škodljivci. Zaradi številnosti in raznolikosti vrst je varstvo kapusnic pred škodljivci zahtevna naloga. Majhen izbor fitofarmaceutskih pripravkov to nalogo še otežuje in hkrati predstavlja izziv za iskanje nekemičnih oz. alternativnih tehnik obvladovanja škodljivcev. Pri nas integrirano varstvo kapusnic pred škodljivci temelji predvsem na uporabi dovoljenih kemičnih sredstev, vendar pa to pogosto ni dovolj uspešno. Ugotavljamo, da je pri obstoječih praksah še veliko možnosti za izboljšave, temelj za te pa je predvsem dobro poznavanje biologije posameznih škodljivcev, natančno spremljanje le-te in poznavanje delovanja posameznih sredstev. Bistveno je, da je pristop celovit in ne usmerjen le na posameznega škodljivca. K iskanju celovitih okolju prijaznih rešitev obvladovanja škodljivih organizmov na kapusnicah so usmerjene raziskave v okviru PURE projekta 7. okvirnega programa EU, ki jih izvajamo tudi v Sloveniji.

Ključne besede: *Brassica oleracea*, varstvo rastlin, škodljivi organizmi, IVR, kapusnice

ABSTRACT

COLE CROPS PROTECTION AGAINST INSECT PESTS – SITUATION, POSSIBILITIES AND CHALLENGES IN INTEGRATED PRODUCTION IN SLOVENIA

Paper describes the current situation in the cole crops production in Slovenia with a focus on the control of insect pests. The main problems are pointed out and existing practices of integrated pest management described. Some possibilities for the improvement of the

¹ dr. agr. znan., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ mag., univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁵ dr. biol. znan., prav tam

⁶ univ. dipl. inž. agr., prav tam

existing practices are suggested and the importance of comprehensive solutions is discussed. Cole crops are the most important group of vegetables in Slovenia. In our ecological conditions the main problems in pest management are caused by insects since more than 20 economically important phytophagous species feed on cole vegetables and related weeds. The damage is frequently caused by different flea beetles (*Phyllotreta* sp.), cabbage root fly (*Delia radicum*) and cabbage moth (*Mamestra brassicae*). The damage by diamondback moth (*Plutella xylostella*), swede midge (*Contarinia nasturtii*) and the cabbage whitefly (*Aleyrodes proletella*) is increasing. Locally or occasionally, large damage can be caused also by several other insect pests. Due to number and diversity of species, the management of harmful insects in cole crops is a challenging task. Limited assortment of phytopharmaceutical products makes this task even harder and, at the same time, possesses a challenge to search for alternative techniques for insect pest management. In Slovenia, integrated pest management in cole crops is based on application of permitted chemical substances; nevertheless it is often not successful enough. By our opinion there are several possibilities for improvement of existing management practices, the basis for them being good knowledge of insect's biology, their precise monitoring and good knowledge of particular substance action. It is essential that the management, chemical or/and by other techniques, is comprehensive and not pointed only towards single pest. The comprehensive and environmental friendly solutions for pest management are the subject of research of the PURE project of the 7th Framework Programme, which are conducted also in Slovenia.

Key words: *Brasica oleracea*, plant protection, harmful insects, IPM, brassicas

1 UVOD

267

Kapusnice so v Sloveniji najbolj razširjena skupina zelenjadnic. Gojimo jih na okoli 700 ha, kar predstavlja približno 20% vseh površin na katerih gojimo zelenjadnice. Tržne pridelave kapusnic je okoli 450 ha, kar je 30% vseh njiv namenjenih tržni pridelavi zelenjave. Daleč najpomembnejša vrsta je belo zelje, ki predstavlja kar 80% vseh pri nas pridelanih kapusnic. Najpomembnejši regiji pridelave kapusnic sta Podravje in Osrednja Slovenija. V teh dveh regijah pridelamo skoraj polovico vseh kapusnic. Med ostalimi regijami velja po obsegu pridelave izpostaviti še Gorenjsko (SURS, lastni preračuni).

Tudi v EU so kapusnice po obsegu pridelave med najpomembnejšimi zelenjadnicami, saj podobno kot pri nas zavzemajo okoli tretjino vseh površin namenjenih zelenjadnicam, kar je okoli 300.000 ha (Eurostat).

Glede na to, da zelenjadnice v EU pokrivajo približno 1% površin, prispevajo pa kar 6,2% k skupni porabi fitofarmaceutskih sredstev (v nadaljevanju FFS) (Eurostat, lastni preračuni), velja temu sektorju posvetiti še posebno pozornost pri iskanju nekemičnih rešitev za varstvo rastlin pred škodljivimi organizmi. Pridelovalci zelenjadnic so namreč postavljeni pred ambiciozen izziv - po eni strani se soočajo z zahtevami po visoki zunanji kakovosti pridelka (videz), po drugi strani pa z zahtevami po pridelkih brez ostankov FFS.

2 MATERIALI IN METODE

Da bi prikazali kakšno vlogo ima varstvo kapusnic pred škodljivci pri pridelavi kapusnic, kot tudi širše pri pridelavi zelenjadnic v Sloveniji, smo pregledali nam dostopne informacije o 1) škodljivcih kapusnic v Sloveniji in 2) porabi FFS na kapusnicah in ostalih zelenjadnicah. Pri pregledu škodljivcev smo glede na vire in naša opažanja izpostavili tiste, ki pri nas povzročajo večjo škodo in jih je zato potrebno redno zatirati. Za oceno porabe fitofarmaceutskih sredstev smo podatke navedene v študiji Ureka in sodelavcev (2012) »Raba FFS in preučitev možnosti za njihovo racionalnejšo uporabo« (v nadaljevanju Študija o rabi FFS), primerjali s podlagami, ki so uporabljene pri »Modelnih kalkulacijah za

zelenjadnice« (Zagorc, 2012). Podatki za Študijo o rabi FFS so bili pridobljeni z anketiranjem tržnih pridelovalcev, navedeni pa so preračunani podatki o povprečnem številu škropljenj, o povprečni porabi aktivnih snovi na površino in skupni porabi aktivnih snovi na vseh pridelovalnih površinah za tržno pridelavo določene zelenjadnice v Sloveniji za leto 2009 - zelje 337 ha, solata 186 ha, čebula 104 ha in paprika 105 ha, ki smo jih v tem prispevku neposredno uporabili. Vhodne podatke za Modelne kalkulacije, katerih del je tudi program varstva rastlin pred škodljivimi organizmi, je pripravila razširjena Strokovna skupina za vrtnarstvo pri Kmetijsko gozdarski zbornici Slovenije, ki je vključevala svetovalce specialiste, večje tržne pridelovalce in strokovnjake s področja pridelave zelenjadnic. Za potrebe pričujočega prispevka smo iz vhodnih podatkov, ki vključujejo vrsto FFS in število škropljenj, pripravili preračun za skupno porabo aktivnih snovi posameznih skupin FFS (insekticidi, fungicidi, herbicidi) na površino ter skupno porabo aktivnih snovi na vseh pridelovalnih površinah za tržno pridelavo določene zelenjadnice v Sloveniji v letu 2011 (SURs) - zelje 350 ha, solata 162 ha, čebula 109 ha in paprika 80 ha.

Pri pregledu v Sloveniji uveljavljenih praks varstva kapusnic pred škodljivci smo naše poznavanje stanja dopolnili s pregledom različnih navodil za varstvo kapusnic (npr. Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, 2012, Milevoj, 2003), različnih objav v strokovni literaturi (npr.: Škerbot, 2006, 2013; Pajmon, 1999; Černe, 1998; Knapič in Simončič, 1997) in tudi priporočili distributerjev FFS v Sloveniji.

Pregled neizkoriščenih možnosti in izzivov, ki nas v Sloveniji čakajo pri varstvu kapusnic pred škodljivci, smo pripravili na podlagi primerjave obstoječih navodil in stanja v praksi kot tudi tujih navodil za varstvo (npr. Natwick *et al.*, 2010, Parker *et al.*, 2012) in rezultatov raziskav s tega področja (npr. Devetak *et al.* 2010, Bohinc in Trdan, 2012).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

268

Na kapusnicah in njim sorodnih plevelih se v Sloveniji hrani okoli 20 gospodarsko pomembnih fitofagnih vrst (Milevoj, 1999). Najpogosteje škodo povzročajo različne vrste bolhačev, (*Phyllotreta* spp.), kapusova muha (*Delia radicum*) in kapusova sovka (*Mamestra brassicae*). Vse bolj razširjeni so kapusov molj (*Plutella xylostella*), kapusova hrčica (*Contarinia nasturtii*) in kapusov ščitkar (*Aleyrodes proletella*). Lokalno oz. občasno lahko večje škode povzročajo tudi kapusova uš (*Brevicoryne brassicae*), kapusov in repni belin (*Pieris brassicae* in *Pieris rapae*), stenice (*Eurydema* sp.) in tobakov resar (*Thrips tabaci*). Škodo na kapusnicah lahko pri nas delajo tudi brazdasti (*Ceutorrhynchus pleurostigma*), repični (*C. napi*) in stebelni (*C. quadridens*) kljunotaj, kapusov koreninar (*Baris laticolis*), velika zeljna muha (*Phorbia floralis*), repični belin (*Pieris napi*), metlica (*Loxostege sticticalis*) ter zeljna (*Heterodera cruciferae*) in pesna (*H. schachtii*) ogorčica. Seveda se na kapusnicah pojavljajo tudi drugi, glede hrane manj izbirčni škodljivci kot so talne (*Agrotis* spp.) in listne (*Mamestra* spp., *Autographa gamma*) sovke, različne vrste uši (*Aphididae*), strune (*Elateridae*), bramor (*Gryllotalpa gryllotalpa*), poljski majski hrošč (*Melolontha melolontha*), polži (*Limax* spp. *Arion* spp. *Deroceras* spp. *Milax* spp.) in prosto živeče ogorčice (*Pratylenchus* spp.), zagotovo pa kapusnice teknejo še kakšnemu. Naj omenimo še škodljivca, ki napadeta predvsem semenske posevke kapusnic - redkvin kljunotaj (*C. assimilis*) in kapusova luskova hrčica (*Dasineura brassicae*) (Škerbot, 2013, Trdan in Bobnar, 2007, Devetak *et al.*, 2010, Knapič in Simončič, 1997, Pajmon, 1999, Černe, 1998, Vrabl, 1986, Milevoj, 2003).

Zaradi številnosti in raznolikosti vrst je varstvo kapusnic pred škodljivci zahtevna naloga. Na to, da so prav težave s škodljivci pogosto eden trših orehov pri pridelavi kapusnic v Sloveniji, kaže tudi število škropljenj z insekticidi v primerjavi s številom škropljenj z ostalimi skupinami FFS (preglednica 1). Študija o rabi FFS navaja, da pridelovalci v povprečju zelje škropijo 2,1-krat, od tega z insekticidom 1,6-krat (Urek *et al.*, 2012). V Modelnih kalkulacijah

za zelenjadnice pa je za pozno zelje predvideno skupaj 14 škropljenj s FFS, od tega 6 z insekticidi, za cvetačo pa skupaj 9 škropljenj s FFS, od tega 5 z insekticidi (Zagorc, 2012).

Preglednica 1: Ocena porabe FFS pri tržni pridelavi kapusnic v Sloveniji
Table 1: Estimation of use of FFP in marketable production of cole crops in Slovenia

Vir*	Fungicidi			Insekticidi**			Herbicidi			Skupaj		
	število škropljenj	a.s. (kg)		število škropljenj	a.s. (kg)		število škropljenj	a.s. (kg)		število škropljenj	a.s. (kg)	
	ha	skupaj v SLO		ha	skupaj v SLO		ha	skupaj v SLO	ha	skupaj v SLO		skupaj v SLO
Študija												
zelje	0,6	0,53	199,6	1,6	0,04	14,5	0,9	0,93	350,2	2,1	1,50	564,3
Kalkulacije												
pozno zelje	5***	1,50	525,7	5+1	0,23+0,02	81,6+7,0	3	2,88	1008,0	14	4,63	1620,5
cvetača	2	0,83	31,5	3+2	0,07+0,04	2,5+1,5	2	1,70	64,6	9	2,64	100,5

* Študija (Urek *et al.*, 2012), Kalkulacije (Zagorc, 2012)

** škropljenja in poraba aktivne snovi pripravkov na osnovi *Bacillus thuringiensis* so prikazana kot prištevek

*** foliaro gnojenje z bakrom ni upoštevano

Preglednica 2: Ocena porabe insekticidov pri tržni pridelavi najbolj razširjenih zelenjadnic v Sloveniji
Table 2: Estimation of use of insecticides in marketable production of most important vegetables in Slovenia

Vir*	Študija			Kalkulacije**		
	število škropljenj	a.s. (kg)		število škropljenj	a.s. (kg)	
	ha	skupaj v SLO	ha	skupaj v SLO		skupaj v SLO
Zelenjadnica						
Zelje	1,6	0,038	14,5	5+1	0,23+0,02	81,6+7,0
Solata	1,0	0,069	12,8	/	/	/
spomladi	/	/	/	0	0	0
poleti	/	/	/	2	0,100	16,2
Čebula	1	0,240	25,0	3	0,588	64,1
Paprika	1,4	0,086	9,0	5	0,075	6,0

* Študija (Urek *et al.*, 2012), Kalkulacije (Zagorc, 2012)

** škropljenja in poraba aktivne snovi pripravkov na osnovi *Bacillus thuringiensis* so prikazana kot prištevek

Uporaba insekticidov pri štirih v tržni pridelavi v Sloveniji najbolj razširjenih zelenjadnicah je prikazana v preglednici 2. Največ škropljenj z insekticidi je tako v Študiji o rabi FFS (Urek *et al.*, 2012) kot v Modelnih kalkulacijah za zelenjadnice (Zagorc, 2012) prav pri zelju. Skupna količina pri posamezni zelenjadnici porabljenih aktivnih snovi insekticidov v Sloveniji je glede na Modelne kalkulacije največja pri zelju, glede na Študijo o rabi FFS pa pri čebuli.

V Sloveniji varstvo kapusnic pred škodljivci temelji na uporabi dovoljenih kemičnih sredstev. Od preventivnih ukrepov pridelovalci v omejenem obsegu upoštevajo le priporočila glede kolobarja in prekrivanja zgodnjih posevkov, medtem ko ostalih tehnoloških ukrepov (npr. namakanje, gnojenje, zatiranje plevelov in obdelava tal) ne izvajajo z mislijo na učinke, ki jih lahko imajo pri varstvu kapusnic pred škodljivci. Kapusnice tako večinoma pridelujejo v dve-ali triletnem kolobarju, čeprav strokovna literatura (npr. Černe *et al.*, 1989) priporoča tri- do petletni kolobar. Slednjega priporočila ne upoštevajo niti Tehnološka navodila za integrirano pridelavo zelenjave (MKO, 2012), ki predpisujejo triletni kolobar in dopuščajo pogostejše gojenje na primernih rastiščih. Prekrivanje zgodnjih posevkov z vlaknatimi prekrivkami pridelovalci uporabljajo predvsem kot varstvo pred mrazom in posledično zgodnejše dozorevanje. Kadar je prekrivanje izvedeno pravočasno in dosledno, je lahko učinkovit ukrep

za varstvo pred nekaterimi škodljivci. Res pa je, da je prekrivanje z vlaknato prekrivko v praksi zanimivo predvsem pri zgodnji pridelavi kapusnic.

Tudi varstvo s kemičnimi sredstvi pogosto ni dovolj uspešno. Razloge gre po našem mnenju iskati predvsem v tem, da varstvo ni izvedeno ob pravem času in da je izbor FFS zelo omejen. Do ukrepanja ob nepravem času prihaja zato, ker pridelovalci večinoma ukrepajo “na pamet” oz. za “vsak slučaj” ali pa prepozno, saj napovedi pojavljanja škodljivcev ni, le redki pa sami dosledno pregledujejo posevke. Prav tako ni tehnoloških navodil oz. so nepopolna, poznavanje biologije škodljivcev in naravnih sovražnikov pa je slabo. Na splošno imajo pridelovalci na voljo razmeroma malo primernih FFS, pogosto so tudi registracije ožje kot v drugih državah oz. sredstva niso registrirana za določen namen uporabe (npr. pomakanje sadik).

Pri sedanjem pristopu k varstvu kapusnic v Sloveniji veliko preventivnih ukrepov ostaja neizkoriščenih:

- vsaj štiriletni kolobar za križnice,
- dosledno globoko zaoravanje rastlinskih ostankov takoj po spravilu,
- slepa setvena priprava tal (ne le zaradi plevelov temveč tudi zaradi talnih škodljivcev),
- uporaba zdravih sadik,
- medvrstno okopavanje zmanjšuje populacije nekaterih škodljivcev (muha, bolhači),
- namakanje z oroševanjem ali kapljično in ne z rolomati, da se tla manj zbijejo,
- doslednejše odstranjevanje plevelov tudi ob robovih njiv (zmanjšanje napada uši, bolhačev, sovk),
- več prekrivanja zgodnjih posevkov,
- uporaba privabilnih posevkov,
- pogostejše pregledovanje posevkov in
- spremljanje pojavljanja škodljivcev z vabami in pastmi.

270

Zelo slabo je izkoriščeno tudi biotično varstvo z uporabo pripravkov na osnovi *Bacillus thuringiensis* proti metuljem, čeprav je pripravek že leta na voljo in je ob pravilni uporabi zelo učinkovit. Zaradi majhnega števila generacij, ki jih imajo škodljivci kapusnic iz reda metuljev (Lepidoptera) pri nas, je tudi verjetnost, da bi hitro prišlo do razvoja odpornosti, o kateri sicer poročajo iz območij z večjim številom generacij, majhna.

Kar nekaj možnosti za izboljšanje učinkovitosti varstva kapusnic pred škodljivci je tudi pri varstvu s kemičnimi sredstvi:

- varstvo sadik pred ali ob presajanju – z enkratnim varstvom zavarujemo rastline v najbolj občutljivi fazi (bolhači, muha),
- razširitev registracije nekaterih FFS (npr. spinosad, ki ima v Sloveniji pri kapusnicah le dovoljenje za foliarno aplikacijo proti cvetličnemu resarju (*Frankliniella occidentalis*), ima v Nemčiji dovoljenje za pomakanje sadik, ki se je tudi v naših poskusih pokazalo kot učinkovito za zatiranje kapusove muhe) in
- ukrepanje, ko je presežen prag škodljivosti.

Osnovni izziv tako pri varstvu kapusnic kot pri drugih zelenjadnicah je najti dolgoročne rešitve, ki bi zmanjšale odvisnost pridelave od FFS pri vseh skupinah škodljivih organizmov (pleveli, bolezni, škodljivci) in bi bile ekonomsko sprejemljive. V sedanjih razmerah bi to pri varstvu kapusnic v Sloveniji pomenilo predvsem:

- vzpostavitev prognoze (muha, hržica...),

- izobraževanje stroke in pridelovalcev – boljše poznavanje biologije škodljivcev, ugotavljanje parazitiranosti, poznavanje naravnih sovražnikov in vzdrževanje populacije le teh, določitev in upoštevanje pragov škodljivosti,
- združevanje znanja, ki je bilo pridobljeno na različnih inštitucijah v okviru različnih nalog, projektov in pri terenskem delu ter pripravo celovite tehnologije (varstva) in
- raziskave novih alternativnih rešitev.

4 SKLEPI

1. Med vsemi škodljivimi organizmi, ki v Sloveniji napadajo kapusnice, so škodljivci tisti, ki povzročajo največ škode, zato jih je potrebno redno zatirati.
2. Med vsemi fitofarmaceutskimi sredstvi, ki jih tržni pridelovalci uporabljajo na kapusnicah, so največkrat uporabljeni insekticidi.
3. Glede na to, da kapusnice v Sloveniji med zelenjadnicami zasedajo največ površin, bi z manjšo porabo FFS pri kapusnicah pomembno prispevali tudi k njihovi manjši skupni porabi na zelenjadnicah v Sloveniji.
4. Možnosti za zmanjšanje odvisnosti pridelave kapusnic od FFS so številne in pri varstvu pred škodljivci vključujejo doslednejšo upoštevanje preventivnih ukrepov, širšo uporabo obstoječih načinov biotičnega varstva in izboljšanje učinkovitosti varstva s kemičnimi FFS.
5. Čim prej je potrebno vzpostaviti prognozo za pomembnejše škodljivce kapusnic in pridelovalce seznaniti z metodami okolju prijaznejšega varstva.

5 ZAHVALA

Prispevek je nastal s pomočjo sredstev 7. okvirnega programa EU (FP7/2007-2013), v okviru projekta PURE (številka pogodb 265865).

6 VIRI

- Bohinc, T., Trdan, S. 2012. Trap crops for reducing damage caused by cabbage stink bugs (*Eurydema* spp.) and flea beetles (*Phyllotreta* spp.) on white cabbage: fact or fantasy? Int. J. Food, Agric. & Environ. (Print), 10, 2: 1365-1370.
- Černe, M., Jakič, O., Urek, G. 1989. Tehnološki list - Pridelovanje zelja. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije, 13/1989: 27 str.
- Černe, M. 1998. Kapusnice. Ljubljana, Kmečki glas: 173 str.
- Devetak, M., Vidrih, M., Trdan, S. 2010. Cabbage moth (*Mamestra brassicae* [L.]) and bright-line brown-eyes moth (*Mamestra oleracea* [L.]) - presentation of the species, their monitoring and control measures. Acta agric. Slov. [Tiskana izd.], 95, 2: 149-156.
- Knapič, V., Simončič, A. 1997. Zdravstveno varstvo nekaterih vrtnin. Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo: 1-7.
- Milevoj, L. 1999. Biotično varstvo kapusnic. Sodobno kmetijstvo, 32, 11: 540-542.
- Milevoj, L. 2003. Vpliv namakanja na boleznin in škodljivce vrtnin. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 13-20.
- Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, 2012. Tehnološka navodila za integrirano pridelavo zelenjave. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo in okolje: 118 str. Dostopno na: http://www.mko.gov.si/fileadmin/mko.gov.si/pageuploads/podrocja/Kmetijstvo/Integrirana_pridelava/TN_IPZ_2012.pdf
- Natwick, E. T., Koike, S. T., Subbarao, K. V., Westerdahl, B. B., Ploeg, A., Smith, R. F., Fennimore, S. A., Daugovish, O., Le Strange, M., Turini, T. A., Osienski, K. A. 2010. UC Pest Management Guidelines: Cole Crops. Davies, University of California: 73 str. Dostopno na: <http://www.ipm.ucdavis.edu/PDF/PMG/pmgcolecrops.pdf>
- Pajmon, A. 1999. Škodljivci kapusnic. Sodobno kmetijstvo, 32, 11: 537-540.

- Parker, J., Miles, C., Murray, T., Snyder, W. 2012. Organic management of flea beetles. A Pacific Extension Publication PNW 640. Washington State University, 9.str. Dostopno na: <http://cru.cahe.wsu.edu/CEPublications/PNW640/PNW640.pdf>
- SURS 2013. Dostopno na SI-Stat podatkovnem portalu: <http://pxweb.stat.si/pxweb/Database/Okolje/Okolje.asp>
- Škerbot, I. 2013. Varstvo kapusnic. V: Posvet Pridelovanje in kisanje zelja, Ljubljana, 29. januar 2013. Maribor, Slovensko združenje za integrirano pridelavo zelenjave; Ljubljana: Biotehniška fakulteta, 2013: 6.
- Škerbot, I. 2006. Kapusova muha. Vrtnarstvo, 2, 1: 11-12.
- Trdan, S., Bobnar, A. 2007. Sezonska dinamika treh škodljivih vrst žuželk na zelju. V: Maček., J. (ur.). Zbornik predavanj in referatov 8. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 6.-7. marec 2007. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2007: 65-71.
- Urek, G., Knapič, M., Urbančič Zemljič, M., Škerlavaj, V., Simončič, A., Persolja, J., Rak Cizej, M., Radišek, S., Lešnik, M. 2012. Raba fitofarmaceutskih sredstev in preučitev možnosti za njihovo racionalnejšo uporabo v Sloveniji. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 163 str.
- Vrabl, S. 1986. Posebna entomologija - škodljivci poljščin. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani: 145 str.
- Zagorc, B. 2012. Modelne kalkulacije za zelenjadnice. Dostopno na: http://www.mko.gov.si/fileadmin/mko.gov.si/pageuploads/Medijsko_sredisce/2012/April_12/19_SJ_Modelne

BAKTERIOFAGI KOT ALTERNATIVNI NAČIN ZATIRANJA BOLEZNI RASTLIN

Tina NAGLIČ¹, Magda TUŠEK ŽNIDARIČ², Maja RAVNIKAR³, Matjaž PETERKA⁴,
Tanja DREO⁵

^{1,3,4,5}Center odličnosti za biosenzoriko, instrumentacijo in procesno kontrolo, Solkan
^{2,3,5}Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo,
Ljubljana

IZVLEČEK

Za bakterijske bolezni rastlin učinkovitega kemijskega varstva ni, zato je razvoj alternativnih načinov zatiranja bolezni zelo pomemben. Odstranjevanje okuženih rastlin sicer pomembno prispeva k zajezitvi širjenja bolezni, vendar je za učinkovito obvladovanje bolezni boljše preventivno varstvo. Ena od možnosti so bakteriofagi, virusi, ki specifično napadajo bakterije. Pri izolaciji bakteriofagov proti iskani bakteriji se srečamo z mnogimi težavami. V prispevku opisujemo optimizacijo postopka izolacije bakteriofagov iz izbranega materiala (tal) in postopka določanja gostiteljskega razpona bakteriofagov v visoko zmogljivostnem formatu. Razvoj uporabe bakteriofagov lahko predstavlja učinkovito varstvo pred boleznimi rastlin.

Ključne besede: alternativno varstvo rastlin, bakteriofagi, bakterije

ABSTRACT

BAKTERIOPHAGES AS ALTERNATIVE CONTROL OF PLANT DISEASES

Effective chemical protection for bacterial diseases of plants is not known. Elimination of diseased plants is ineffective, therefore the research of effective alternative disease control is needed. Our aim is to develop a plant protection with bacteriophages, that are bacteria specific. When isolating bacteriophages, we are faced with several challenges. In this article we describe basic approach of bacteriophage use. Further more we describe optimisation of bacteriophage isolation from soil and high-throughput method for host range determination of bacteriophages. Optimisation of this approach and development of bacteriophage use can represent the effective plant disease protection.

Key words: alternative plant protection, bacteria, bacteriophages

1 UVOD

Bakteriofagi so virusi, ki okužujejo bakterije in so v naravi, predvsem v vodi, tleh in v vseh okoljih, kjer najdemo tudi bakterije. So najbolj razširjena oblika življenja na svetu (Hanlon, 2007).

¹ univ. dipl. mikrobiol., Velika pot 22, SI-5250 Solkan

² dr. biol. znan., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

³ dr. biol. znan., Velika pot 22, SI-5250 Solkan in Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

⁴ dr. mikrobiol. znan., Velika pot 22, SI-5250 Solkan

⁵ dr. biotehn. znan., Velika pot 22, SI-5250 Solkan in Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

Bakteriofage, ki so sposobni povzročiti razpad bakterijskih celic (litični bakteriofagi), načeloma iščemo v bližini gostiteljskih bakterij, na katerih se razmnožujejo. Dokler ne poznamo karakteristik določenega bakteriofaga, npr. njegovega nukleotidnega zaporedja, ga lahko v naravi zaznamo le z njegovim namnoževanjem na rastočih gostiteljskih bakterijah. V tleh so bakteriofagi močno vezani na delce tal in zato za ekstrakcijo uporabljamo pufre, ki to vezavo preprečijo. Sproščene bakteriofage ločimo od nečistoč in zmešamo z gostiteljskimi bakterijami. Bakteriofag ob stiku prepozna gostiteljsko bakterijo in jo okuži. Podobno kot ostali virusi je sposoben uporabiti celične mehanizme in celotni celični metabolizem preusmeriti v proizvodnjo velike količine kopij bakteriofagnega delca. Ko se novo nastali bakteriofagi sprostijo v okolje, bakterijska celica razpade. Na trdnem gojišču s konfluentno rastočo gostiteljsko bakterijo so poškodbe, ki jih povzroči bakteriofag, tako hitre in obsežne, da lahko na gojiščih s prostim očesom opazimo območja zbistritve, plake, kjer je prišlo do razpada bakterij. Na podoben način lahko bakteriofage namnožimo v večjih količinah in jih uporabimo za nadaljnjo karakterizacijo.

Postopek določanja gostiteljskega razpona je ena od osnovnih metod za opis bakteriofagov, ki nam pove, katere bakterije je bakteriofag sposoben okužiti. Mnogi bakteriofagi so zelo specifični in okužujejo le določene seve gostiteljskih bakterij. Če želimo rastline zavarovati pred celotnim naborom sevov izbrane vrste bakterij, moramo izbrati več bakteriofagov, katerih gostiteljski razponi se dopolnjujejo. Gostiteljski razpon bakteriofagov ugotavljamo z eno od variant metode plakov: (i) 'plaque assay'-a, v katerem mešanico enega izolata bakterije in enega bakteriofaga razlijemo na petrijevo ploščo umetnega gojišča ali (ii) 'spot assay'-a, kjer na eno petrijevo ploščo premera 90 mm z nacepljenim izolatom tarčne bakterije nakaplujemo več bakteriofagov (navadno do 12). V obeh primerih po določenem času inkubacije opazujemo razvoj, velikost in morfologijo plakov (con lize bakterij). Za analizo večjega števila bakteriofagov na več bakterijskih izolatih, kakor je potrebno za praktično uporabo bakteriofagov, je določanje gostiteljskega razpona bakteriofaga zelo zamuden postopek z veliko porabo materiala (petrijevih plošč, nastavkov za pipete), pogoje testiranja za vse vzorce pa težko poenotimo.

V prispevku opisujemo postopek preverjanja učinkovitosti različnih pufrov za izolacijo bakteriofagov iz tal ter optimizacijo določanja gostiteljskega razpona bakteriofagov z uporabo Scienceware® replicatorja za mikrotitrne ploščice s 96-luknjicami, ki predstavlja visoko zmogljivo različico 'spot assay'-a.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Bakterijski izolati in bakteriofagi

V študijo smo vključili 7 izolatov *Pectobacterium cypripedii*, ki smo jih pridobili iz zbirke National Collection of Plant Pathogenic Bacteria (NCPPB, Food and Environmental Research Agency, UK). Bakterije smo hranili na sistemu MicroBank™ pri temperaturi pod -76 °C. Bakterije smo gojili na trdnih gojiščih LB Luria pri temperaturi 25-28 °C. Modelni bakteriofag smo izolirali iz listov orhidej z bolezenskimi znamenji gnitja in obogatili z mešanico izolatov *Pectobacterium cypripedii* iz zbirke.

2.2 Primerjava raztopin za izolacijo bakteriofagov iz tal

Za uspešno izolacijo (sprostitvev) bakteriofagov iz tal je v literaturi opisanih več različnih raztopin. V poskusu izolacije bakteriofagov smo primerjali 5 raztopin, ki naj bi omogočale učinkovito sproščanje bakteriofagov iz tal: TSB (Trypticase Soy Broth) (pH 7), TSB (pH 9), 1 % kalijev citrat, 10 % goveji ekstrakt, deionizirana sterilna voda (Twist in Kropinski, 2009). Po 45 mL vsake posamezne raztopine smo zmešali z znano koncentracijo modelnega

bakteriofaga ($50 \mu\text{L } 3,5 \times 10^{10} \text{ pfu/mL}$) in 5 gramih travniških tal, ki smo jo prej 24 ur sušili pri 37°C . V poskus smo vključili negativno kontrolo, pri čemer smo za izolacijo bakteriofagov iz posušenih tal, v katero nismo posebej dodali bakteriofagov, uporabili raztopino TSB (pH 9). Suspenzije smo inkubirali 1 uro pri sobni temperaturi s stalnim obračanjem centrifugirki na aparaturi Heto Mastermix. Po stresanju smo suspenzije centrifugirali 10 minut pri 10.000 g, supernatant prelili v novo centrifugirko in ponovili centrifugiranje pri istih pogojih. Supernatant, v katerem smo pričakovali bakteriofage, smo filtrirali skozi filter z $0,2 \mu\text{m}$ porami. Preostalo suspenzijo smo hranili pri $+4^\circ\text{C}$ oziroma pod -76°C . Zastopanost bakteriofagov v suspenzijah, pripravljenih z različnimi raztopinami, smo preverjali z metodo plakov, kjer smo na gojišču opazovali razgraditev bakterijskih celic v obliki plakov. Postopek smo izvedli v treh ponovitvah. Za določanje izkoristka izolacije bakteriofagov po izolaciji iz tal smo plake prešteli in določili povprečno koncentracijo izoliranih bakteriofagov ter jo izrazili kot 'plaque forming unit' na mL (pfu/mL). Izkoristek smo določili z izračunom razmerja med izoliranimi in dodanimi bakteriofagi.

2.3 Optimizacija postopka določanja gostiteljskega razpona

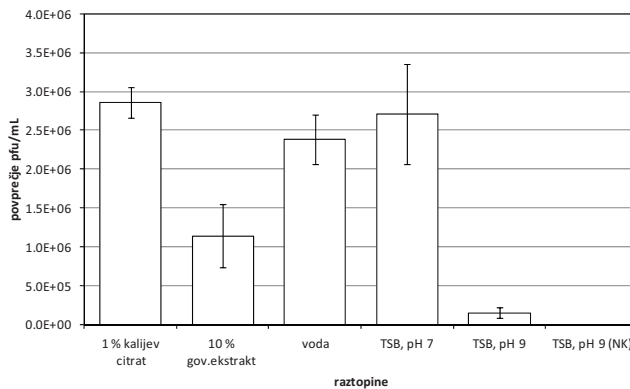
Za optimizacijo določanja gostiteljskega razpona smo uporabili večje petrijeve plošče (premer 140 mm) z bakterijsko travico, ki omogočajo nanos in hkratno evalvacijo do 96 različnih bakteriofagov, nanosenih v formatu mikrotitrne ploščice s pomočjo Scienceware® replicatorja (Sigma, Z370819). Bakteriofage, shranjene v mikrotitrski ploščici, smo s sterilnim Scienceware® replicatorjem previdno prenesli na ploščo z bakterijsko travico, tako da smo na travico odložili kapljice bakteriofagne suspenzije. Plošče smo inkubirali preko noči pri temperaturi $25\text{--}28^\circ\text{C}$.

275

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Primerjava raztopin za izolacijo bakteriofagov iz tal

Primerjava raztopin za izolacijo modelnega bakteriofaga iz tal je pokazala manjše razlike med uporabljenimi tekočinami. Najboljši izkoristek izolacije bakteriofagov (izolirani bakteriofagi/dodani bakteriofagi) smo dosegli z uporabo 1 % kalijevega citrata (slika 1).



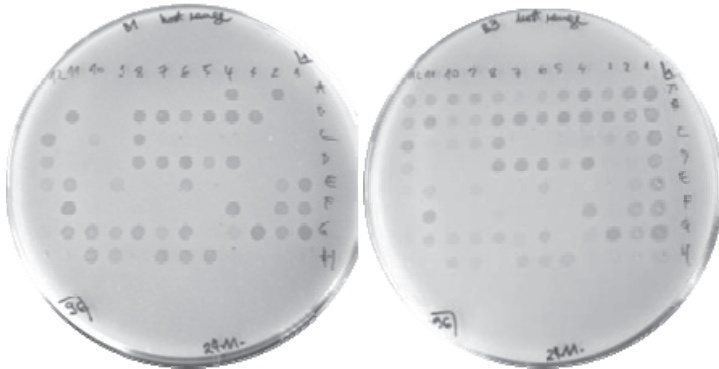
Slika 1: Količina izoliranih modelnih bakteriofagov iz tal z znano enako začetno koncentracijo bakteriofagov z uporabo različnih raztopin. Prikazane so povprečne vrednosti (pfu/mL raztopine) določene v treh ponovitvah in standardni odklon meritev.

Figure 1: Amount of model bacteriophage (pfu/mL) isolated from soil, spiked with equal initial concentration of model bacteriophage, using different extraction solutions. Average values of three repeats with standard deviations are shown.

Zelo dober izkoristek kažeta tudi gojišče TSB (pH 7) in deionizirana sterilna voda. Za izolacijo modelnega bakteriofaga je bilo najmanj ustrezno gojišče TSB s pH vrednostjo 9.

3.2 Optimizacija postopka določanja gostiteljskega razpona

Postopek določanja gostiteljskega razpona bakteriofagov smo optimizirali z vidika porabljenega materiala, časa in ponovljivosti testa z uporabo večjih petrijevih plošč (premer 140 mm) z naneseno bakterijsko travico, na katere lahko z uporabo Scienceware® replicatorja (Sigma, Z370819) v enem koraku hkrati nanesemo do 96 različnih bakteriofagov (slika 2). Najpomembnejše prednosti takšnega postopka so: (i) hkrati lahko analiziramo večje število bakteriofagov, (ii) zagotovimo enake pogoje za vse testirane bakteriofage na eni plošči (enem sevu gostiteljske bakterije), (iii) zmanjšamo porabo potrošnega materiala (replikator je mogoče očistiti in avtoklavirati), (iv) lažje primerjamo velikost, obliko in jakost cone lize ter nenazadnje (v) prihranimo na času priprave materiala in same izvedbe testa.



Slika 2: Določanje gostiteljskega razpona izbranih bakteriofagov v visoko zmogljivostnem formatu. Bakteriofagi so z replikatorjem Scienceware® za mikrotitrne ploščice s 96-luknjicami naneseni na bakterijsko travico dveh različnih bakterij.

Figure 2: High-throughput host range determination of selected bacteriophages. Bacteriophages are added on bacterial lawn of two different bacteria with Scienceware® 96-well replicator.

4 SKLEPI

Uporabljene raztopine so bile različno učinkovite za izolacijo modelnega bakteriofaga iz tal. Razlike v izkoristku bakteriofagov na uporabljenem modelu niso bile velike, zato lahko sklepamo, da optimizacija tega postopka ni vedno potrebna.

Za izolacijo modelnega bakteriofaga iz tal je bil najbolj primeren 1 % kalijev citrat, najslabši izkoristek je bil z uporabo gojišča TSB s pH vrednostjo 9.

Z optimiziranim postopkom določanja gostiteljskega razpona bakteriofagov smo:

- dosegli hkratno analizo večjega števila bakteriofagov,
- poenotili pogoje za vse testirane bakteriofage, ki so tako naneseni na eni plošči (96 fagov na ploščo),
- olajšali primerjavo velikosti in oblike plakov, ker se vsi razvijajo v enakih razmerah,
- zmanjšali porabo materiala/petrijevok, nastavkov za pipete,

- skrajšali čas priprave in evalvacije.

Z optimizacijo postopka določanja gostiteljskega razpona bakteriofagov smo dosegli večjo učinkovitost (glede na število vzorcev) in standardiziranost postopka v primerjavi z objavljenimi postopki.

5 ZAHVALA

Center odličnosti za biosenzoriko, instrumentacijo in procesno kontrolo (COBIK) je operacija, ki jo financirata Evropska unija, Evropski sklad za regionalni razvoj, in Republika Slovenija, Ministrstvo za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo. Za vsesplošno pomoč in rastlinski material se zahvaljujemo Tomažu Jevšniku iz podjetja Ocean Orchids. Iskrena hvala tudi sodelavcem COBIK-a in NIB-a za vzorce tal ter ideje in nasvete.

6 VIRI

Hanlon G.W. 2007. Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 30: 118-128.

Van Twest R., Kropinski A. M. Bacteriophage Enrichment from Water and Soil. V: Clokie M.R.J., Kropinski A. M. 2009. *Bacteriophages: Methods and Protocols*, Vol.1: Isolation, Characterisation, and Interactions.

POSSIBILITY OF QUICK DETECTION OF *Leptinotarsa decemlineata* (Say) SENSITIVITY TO INSECTICIDES

Duška INĐIĆ¹, Slavica VUKOVIĆ², Sonja GVOZDENAC³, Tatjana KEREŠI⁴,
Snežana TANASKOVIĆ⁵

^{1,2,3,4} University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Novi Sad, Serbia

⁵ Faculty of Agronomy, Čačak, Serbia

ABSTRACT

The sensitivity of 10 field populations of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) - CPB (Žednik, Vrbas, Mikićevo, Ljutovo, Đurđin, Alibunar, Banatski Brestovac, Gloganj, Kačarevo and Pančevo) was determined in laboratory conditions. Bioassay was performed using screening test that allows rapid assessment of sensitivity of overwintered adults to insecticides. Sensitivity towards four most commonly used insecticides in CPB control in Serbia (chlorpyrifos, cypermethrin, thiamethoxam and fipronil) was assessed. Insecticides were applied by soaking method at label rates, and two, five and 10 fold higher rates. Insect mortality was assessed after 72 h. Sensitivity of CPB adults was determined according to modified IRAC method (2009) using 1-5 scale (1- highly sensitive populations /E = 100%; 2 - sensitive /100> E ≥ 95%; 3 - slightly resistant /95> E ≥ 90%; 4 - resistant /90> E ≥ 50%; 5 - highly resistant /E <50%). Out of 10 monitored populations of CPB, one was highly sensitive, four were sensitive, three slightly resistant and two resistant to chlorpyrifos applied at label rate. Three populations were highly sensitive, three sensitive and four slightly resistant to cypermethrin. To thiamethoxam applied label rate, six populations were highly sensitive, one was sensitive and two slightly resistant. Regarding fipronil, two populations were highly sensitive, five were sensitive, one was slightly resistant and two were resistant.

Key words: Colorado potato beetle, sensitivity, insecticides

1 INTRODUCTION

The most harmful pest in potato production is certainly *Leptinotarsa decemlineata* (Say), commonly known as Colorado Potato Beetle (CPB). To ensure the expected yield in Serbia potato crops are treated with insecticides two to four times during vegetation. However, the negative effect of pesticide application, besides on human health and the environment, is also reflected in occurrence of insect resistance to certain insecticides. Literature data indicate that CPB resistance was noted for 42 insecticides, belonging to different chemical groups (organophosphates, carbamates, pyrethroids). According to several authors (Stanković *et al.*, 2004; Inđić *et al.*, 2006), CPB resistance to carbamates and organophosphates, as well as to pyrethroids (Inđić, 1997; Perić *et al.*, 1997) was registered in a number of populations in Serbia. This fact justifies CPB ranking among 10 species that most rapidly develop resistance (Mota-Sanchez *et al.*, 2006; Whalon *et al.*, 2008). The aim of the study was the creation of simple and rapid test for detection of sensitivity levels of CPB to insecticides and

¹ prof. dr., Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Serbia

² assist. prof., *ibid.*; e-mail: vukovic@polj.uns.ac.rs

³ mag., *ibid.*

⁴ prof. dr., *ibid.*

⁵ assist. prof., Cara Dušana 34, 32000 Čačak, Serbia

confirmation of resistance, as well as providing a simplified presentation of the results. The method is based on the assessment of sensitivity of overwintered adults to insecticides. It allows quick formation (24-72 h) of information network related to CPB sensitivity in different production regions, and further establishment of strategy for rational use of insecticides in CPB control.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 The site selection

For monitoring of CPB sensitivity to insecticides 10 sites on the territory of Serbia (Žednik, Vrbas, Mikićevo, Ljutovo, Đurđin, Alibunar, Banatski Brestovac, Gloganj, Kačarevo and Pančevo) were selected based on the advice of experts from Agricultural extension service, and were marked with GPS coordinates.

2.2 Applied insecticides

Insecticides belonging to four chemical groups were used in this assay: organophosphates (chlorpyrifos - Pyrinex 48-EC /1.5 l/ha – label rate; 7.5 l/ha – 5 x higher rate; 15 l/ha – 10 x higher rate/), pyrethroids (cypermethrin - Cipkord 20-EC /0.3 l/ha - label rate; 1.5 l/ha – 5 x higher rate; 3 l/ha – 10 x higher rate/), neonicotinoids (thiamethoxam - Actara 25-WG /60 g/ha - label rate; 70 g/ha - label rate; 140 g/ha – 2 x higher rate) and pyrazoles (fipronil - Regent 800-WG /25 g/ha - label rate; 50 g/ha – 2 x higher rate; 125 g/ha – 5 x higher rate).

2.3 Test insect

This bioassay included overwintered adults of CPB field population, which were not in direct contact with insecticides prior to testing. Insects were kept in laboratory conditions, without additional feeding, at temperature of 23 ± 2 °C and usual photoperiod (16/8h).

2.4 Toxicological experiment

Bioassay was based on the assumption that CPB populations have reduced sensitivity to insecticides, and on evaluation of the response of overwintered adults to insecticide label rates (the rate determined in field experiments during the registration process and found to cause 100% mortality) and higher rates. Chlorpyrifos and cypermethrin, which have a long history of use, were applied at five and 10 fold higher quantities than the label rate, and thiamethoxam and fipronil at two and/or 5fold higher rates. Insecticides were applied by insects soaking for 5 sec. The experiment was set up in four replicates with 30 adults per replication (sex ratio 1:1). Assessment of insecticide efficacy consisted of counting the number of dead, paralyzed and alive, 24, 48 and 72 h after insecticide application. Results were corrected for mortality in the control (Schneider Orelli, 1947) and expressed as the efficacy (E%) achieved only after 72 h. Sensitivity was evaluated on the scale 1-5 (1 - highly sensitive populations /E = 100%/; 2 - sensitive /100> E ≥ 95%/; 3 - slightly resistant /95> E ≥ 90%/; 4 - resistant /90> E ≥ 50%/; 5 - highly resistant /E <50%/), which was created as a slight modification of IRAC method No. 011 (Anonymous, 2009) that refers to pollen beetles (*Meligethes* spp.).

3 RESULTS AND DISCUSSION

Analyzing the efficacy of recommended application (label) rates of insecticides, we tended to simulate conditions and effects that persist in the field. The application of two, five or 10 fold higher rates aimed to verify that individuals from the same population survive higher rates of

insecticides. The sensitivity of CPB populations to chlorpyrifos, cypermethrin, thiamethoxam and fipronil was classified (Table 1 and 2) based on the insecticide efficacy achieved in screening test (72 h of exposure) and slightly modified scale for classification of insecticide sensitivity (Anonymous, 2009).

Table 1: Sensitivity of overwintered CPB adults to chlorpyrifos and cypermethrin, scale 1-5.

Sites	Kg; l/ha	efficacy (%) of chlorpyrifos					Kg; l/ha	efficacy (%) of cypermethrin				
		1	2	3	4	5		1	2	3	4	5
Žednik	1.5	-	-	-	66.9	-	0.3	-	-	87.1	-	-
	7.5	-	-	92.6	-	-	1.5	-	99.1	-	-	-
	15	-	-	-	88.9	-	3.0	100	-	-	-	-
Vrbas	1.5	-	-	90.2	-	-	0.3	-	97.3	-	-	-
	7.5	-	99.1	-	-	-	1.5	100	-	-	-	-
	15	100	-	-	-	-	3.0	100	-	-	-	-
Mikičevo	1.5	-	-	92.9	-	-	0.3	-	95.6	-	-	-
	7.5	-	-	92.9	-	-	1.5	100	-	-	-	-
	15	-	98.2	-	-	-	3.0	100	-	-	-	-
Ljutovo	1.5	-	98.1	-	-	-	0.3	-	-	93.6	-	-
	7.5	100	-	-	-	-	1.5	-	97.2	-	-	-
	15	100	-	-	-	-	3.0	-	99.1	-	-	-
Đurđin	1.5	-	-	-	77.5	-	0.3	-	-	93.3	-	-
	7.5	-	-	-	90.0	-	1.5	-	99.2	-	-	-
	15	-	-	90.8	-	-	3.0	100	-	-	-	-
Alibunar	1.5	-	98.3	-	-	-	0.3	-	-	94.9	-	-
	7.5	100	-	-	-	-	1.5	100	-	-	-	-
	15	100	-	-	-	-	3.0	100	-	-	-	-
Banatski Brestovac	1.5	-	95.8	-	-	-	0.3	100	-	-	-	-
	7.5	100	-	-	-	-	1.5	100	-	-	-	-
	15	100	-	-	-	-	3.0	100	-	-	-	-
Gloganj	1.5	100	-	-	-	-	0.3	100	-	-	-	-
	7.5	100	-	-	-	-	1.5	100	-	-	-	-
	15	100	-	-	-	-	3.0	100	-	-	-	-
Kačarevo	1.5	-	-	94.1	-	-	0.3	-	99.0	-	-	-
	7.5	-	96.6	-	-	-	1.5	100	-	-	-	-
	15	-	99.1	-	-	-	3.0	100	-	-	-	-
Pančevo	1.5	-	96.6	-	-	-	0.3	100	-	-	-	-
	7.5	100	-	-	-	-	1.5	100	-	-	-	-
	15	100	-	-	-	-	3.0	100	-	-	-	-

1 - highly sensitive population ($E = 100\%$); 2 - sensitive ($100 > E \geq 95\%$);
3 - slightly resistant ($95 > E \geq 90\%$); 4 - resistant ($90 > E \geq 50\%$); 5 - highly resistant ($E < 50\%$)

Out of 10 surveyed CPB populations only one (Gloganj) was highly sensitive to label rate of chlorpyrifos, while four (Ljutovo, Alibunar, B. Brestovac, Pančevo) were sensitive, three (Vrbas, Mikičevo, Kačarevo) were slightly resistant and two (Žednik, Đurđin) were resistant. Namely, only three out of 10 populations (Žednik, Mikičevo and Đurđin) that were classified as resistant remained in the same category even when treated with higher rates of this insecticide. According to Wegorek *et al.* (2011) the sensitivity of CPB adults to chlorpyrifos, monitored in three consecutive years varied within the same population, and the one from Krotoszyn (Poland) in 2008 and 2010 was not resistant to chlorpyrifos, while in 2009 it showed slight resistance. In this work, three (B. Brestovac, Gloganj, Pančevo) out of 10 CPB populations were highly sensitive to cypermethrin label rates. Three populations (Vrbas, Mikičevo, Kačarevo) were sensitive, while four populations originating from Žednik, Ljutovo, Đurđin and Alibunar were slightly resistant to cypermethrin. All populations CPB

expressed slight increase in sensitivity when cypermethrin was applied at higher rates, therefore they were classified as sensitive or highly sensitive.

Table 2: Sensitivity of overwintered CPB adults to thiamethoxam and fipronil, scale 1-5.

Sites	Kg; l/ha	efficacy (%) of thiamethoxam					Kg; l/ha	efficacy (%) of fipronil				
		1	2	3	4	5		1	2	3	4	5
Žednik	0.06	-	97.2	-	-	-	0.025	100	-	-	-	-
	0.07	100	-	-	-	-	0.05	100	-	-	-	-
	0.14	100	-	-	-	-	0.125	100	-	-	-	-
Vrbas	0.06	-	-	92.9	-	-	0.025	-	98.2	-	-	-
	0.07	100	-	-	-	-	0.05	-	98.2	-	-	-
	0.14	100	-	-	-	-	0.125	100	-	-	-	-
Mikičevo	0.06	-	-	94.7	-	-	0.025	-	98.2	-	-	-
	0.07	100	-	-	-	-	0.05	100	-	-	-	-
	0.14	100	-	-	-	-	0.125	100	-	-	-	-
Ljutovo	0.06	100	-	-	-	-	0.025	-	99.1	-	-	-
	0.07	100	-	-	-	-	0.05	-	99.1	-	-	-
	0.14	100	-	-	-	-	0.125	100	-	-	-	-
Đurđin	0.06	-	-	91.7	-	-	0.025	-	-	92.5	-	-
	0.07	100	-	-	-	-	0.05	100	-	-	-	-
	0.14	100	-	-	-	-	0.125	100	-	-	-	-
Alibunar	0.06	100	-	-	-	-	0.025	-	-	-	87.4	-
	0.07	100	-	-	-	-	0.05	-	-	91.8	-	-
	0.14	100	-	-	-	-	0.125	100	-	-	-	-
Banatski Brestovac	0.06	100	-	-	-	-	0.025	-	-	-	86.5	-
	0.07	100	-	-	-	-	0.05	-	-	-	79.7	-
	0.14	100	-	-	-	-	0.125	100	-	-	-	-
Gloganj	0.06	100	-	-	-	-	0.025	-	98.0	-	-	-
	0.07	100	-	-	-	-	0.05	-	98.0	-	-	-
	0.14	100	-	-	-	-	0.125	100	-	-	-	-
Kačarevo	0.06	100	-	-	-	-	0.025	100	-	-	-	-
	0.07	100	-	-	-	-	0.05	-	99.1	-	-	-
	0.14	100	-	-	-	-	0.125	100	-	-	-	-
Pančevo	0.06	100	-	-	-	-	0.025	-	96.2	-	-	-
	0.07	100	-	-	-	-	0.05	-	97.1	-	-	-
	0.14	100	-	-	-	-	0.125	-	97.1	-	-	-

1 - highly sensitive population ($E = 100\%$); 2 - sensitive ($100 > E \geq 95\%$);
3 - slightly resistant ($95 > E \geq 90\%$); 4 - resistant ($90 > E \geq 50\%$); 5 - highly resistant ($E < 50\%$)

CPB sensitivity to thiamethoxam and fipronil is shown in Table 2. Six of 10 CPB populations demonstrated high sensitivity to recommended application (label) rate of thiamethoxam. One population (Žednik) was classified as sensitive and three populations were slightly resistant to thiamethoxam. The increase in thiamethoxam application rate caused slight increase in sensitivity of all populations. When fipronil was applied at label rate, two (Vitkovac and Makovište II) out of 10 CPB populations were highly sensitive, and regardless on the applied rates the efficacy was 100%. Five populations were sensitive, while one population was slightly resistant and two were resistant (Alibunar, B. Brestovac). Highly resistant populations to fipronil were not registered. Three populations (Đurđin, Alibunar, B. Brestovac), expressed heterogeneity in sensitivity, depending on the application rates of fipronil and they were classified from resistant to highly sensitive.

4 CONCLUSIONS

Based on the results of screening test on sensitivity of 10 CPB populations from Serbia to insecticides (label rates) it can be conclude that one population was highly sensitive, four were sensitive, three were slightly resistant and two were resistant to chlorpyrifos; Three populations were highly sensitive, three sensitive, and four were slightly resistant to cypermethrin; Six populations were highly sensitive, one was sensitive and three were slightly resistant to thiamethoxam; Two populations were highly sensitive, five were sensitive, one was slightly resistant and two were resistant to fipronil.

5 ACKNOWLEDGEMENT

The research was conducted within the project III 46008, funded by the Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia.

6 REFERENCES

- Anonymous, 2009. IRAC Susceptibility Test Methods Series, Version 3, Method No. 011.
- Indić, D. 1997. Effect of joint action of insecticides on colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). Review of Research Work at the Faculty of Agriculture, Belgrade, 42 (1): 7-22.
- Indić, D., Vuković, S. and Klokošar-Šmit, Z. 2006. Rapid detection of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) sensitivity to insecticides. XVII Czech and Slovak Plant Protection Conference, Prague, Czech, 2006, pp. 459-464.
- Indić, D., Vuković, S., Tanasković, S., Grahovac, M., Kereši, T., Gvozdenac, S. and Savčić-Petrić, S. 2012. Screening Test for detection of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) sensitivity to insecticides. Pesticides & Phytomedicine, 27 (1), 59-67.
- Mota-Sanchez D., Hollingworth, R.M., Grafius, E.J. and Moyer, D.D. 2006. Resistance and cross-resistance to neonicotinoid insecticides and spinosad in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). Pest Management Science, 62: 30-37.
- Perić I., Miloševski, N. and Kljajić, P. 1997. Insecticide susceptibility of the Colorado potato beetle in the vicinity of Belgrade, Yugoslavia. Acta Horticulturae, 462: 983-990.
- Schneider-Orelli, O. 1947. Entomoloisches Praktikum. Aufl.- Aarau.
- Stanković, S., Zabel, A., Kostić, M., Manojlović, B. and Rajković, S. 2004. Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) resistance to organophosphates and carbamates in Serbia. Journal of Pest Science, 77(1): 11-15.
- Whalon M.E., Hollingworth, R.M. and Mota-Sanchez, D. 2008. The MSU database of pesticide resistance. <http://www.pesticideresistance.org>.
- Wegorek P., Zamojska, J. and Mrowczynski, M. 2011. Susceptibility level of the colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) to chlorpyrifos, and acetamiprid in Poland and resistance mechanisms of the pest to chlorpyrifos. Journal of Plant Protection Research, 51 (3): 279-284.

PRVI REZULTATI ULOVA POLJSKEGA MAJSKEGA HROŠČA (*Melolontha melolontha* L.) S SVETLOBNIMI IN ALKOHOLNO-FEROMONSKIMI VABAMI

Anka POŽENEL¹, Mojca BAVCON KRALJ², Mojca ROT³, Ivan ŽEŽLINA⁴, Jana ČUK⁵,
Branko CARLEVARIS⁶

Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica, Nova Gorica

IZVLEČEK

Škode zaradi prerasmnožitve poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.) na travinju se v Sloveniji pojavljajo že od leta 2002. Zatiranje škodljivca je oteženo, ker v Sloveniji nimamo registriranih insekticidov zoper ogrce majskega hrošča na travinju. V poskusu smo primerjali dve različni svetlobni in devet alkoholno-feromonskih vab z namenom ugotavljanja številčnosti in dinamike populacije poljskega majskega hrošča ter z namenom iskanja ustrezne in cenovno sprejemljive metode zatiranja odraslih osebkov majskega hrošča. Primerjali smo ulov odraslih osebkov na belo in zeleno svetlobo, pri čemer smo ugotovili večji ulov na beli svetlobni vabi. Pri preizkušanju alkoholno-feromonskih vab smo zabeležili največji ulov na vabi z mešanico feromonov in alkohola 1,4-benzokinon + tolokinon + *cis*-3-heksanol, sledili pa sta vabi s *cis*-3-heksanolom in tolokinonom posamično. Uspešna je bila tudi vaba s 3-etil acetatom. Preizkušanje omenjenih metod bomo nadgradili v prihajajoči sezoni in tako preverili njihovo ustreznost za zatiranje majskega hrošča v praksi.

283

Ključne besede: poljski majski hrošč, *Melolontha melolontha*, svetlobne vabe, alkoholno-feromonske vabe

ABSTRACT

FIRST RESULTS OF CAPTURING THE COMMON COCKCHAFFER ADULTS (*Melolontha melolontha* L.) USING LIGHT TRAPS AND ALCOHOL-PHEROMONE TRAPS

Since 2001 several outbreaks of common cockchafer (*Melolontha melolontha* L.) have been detected and caused damages on Slovenian grassland. The control of common cockchafer grubs is even more difficult because no insecticides are registered in Slovenia for this purpose. In order to monitor pest population dynamics and to find out cost-effective control methods of adult cockchafers, two different light traps and nine alcohol - pheromone traps were tested in our field trail. We compared white and green light traps and it was noticed that a larger number of adults were trapped on the white one. In alcohol - pheromone traps the most attractive to adult cockchafers was the trap filled with the mixture of 1,4 benzoquinone + toluquinone + *cis*-3-hexen-1-ol, followed by the traps filled with *cis*-3-hexen-1-ol and toloquinone individually. Besides, also trap filled with 3-ethyl acetate was successful. In the coming season, we intend to upgrade the testing methods in order to verify their suitability for the control of common cockchafer in practice.

Key words: common cockchafer, *Melolontha melolontha*, light traps, alcohol pheromone traps

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

² dr. kem. znan., Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ dr. agr. znan., prav tam

⁵ univ. dipl. inž. agr., Rutarjeva 35, SI-5220 Tolmin

⁶ dipl. inž. agr., Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica

1 UVOD

V Sloveniji smo se z veliko preraszmožitvijo poljskega majskega hrošča srečali na Idrijskem na Črnovrški planoti, kjer se škoda po tem škodljivcu pojavlja od leta 2002. Najobsežnejša škoda na travinju je bila v letu 2005, ko je bilo na Idrijskem in drugod po Sloveniji popolnoma uničenih preko 1000 ha travnikov. Po izvedenem obsežnem biotičnem zatiranju z entomopatogeno glivo *Beauveria brongniartii* L. v občini Idrija in Logatec v letih od 2007 do 2009 se je populacija večinoma znižala na neškodljivo ali vsaj sprejemljivo raven. Intenzivnejši leti odraslih majskih hroščev se občasno pojavljajo na različnih manjših območjih Slovenije, kjer se posledično pojavlja tudi škoda predvsem na travinju.

2 MATERIAL IN METODE

Za spremljanje intenzivnosti leta hroščev in preučevanje njihove bionomije se v svetu uporabljajo svetlobne in feromonske vabe, ki so utemeljene v več raziskavah (Hegedus in sod., 2006; Ruther in sod., 2001; Reinecke in sod., 2005). Za preveritev teh trditev smo skonstruirali in postavili svetlobne in alkoholno feromonske vabe na območju leta odraslih majskih hroščev na Otlci nad Ajdovščino (n. v. 900 m) v začetku maja 2012. Prilet hroščev smo spremljali na svetlobnih vabah bele in zelene barve od postavitve 3.5. do 19.6. 2012. Na alkoholnih in feromonskih vabah pa smo izvajali menjavo atraktantov in spremljali ulov hroščev od 9.5. do 19.6. 2012.

Prilet hroščev k svetlobnim in alkoholno feromonskim vabam je bil maloštevilen, posebej še po ohladitvi (13. 5. 2012), ki je vidno zmanjšala intenziteto leta majskih hroščev. Ob ohladitvi se je temperatura spustila do 0 °C. Med dežjem je padal tudi sneg, ki se je na bližnjih vrhovih na Otlci obdržal tudi preko noči. Veliko majskih hroščev je v hladu poginilo, kasneje pa je let in aktivnost hroščev oviral tudi pogost dež.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Ulov poljskega majskega hrošča tako na svetlobne kot tudi na alkoholno feromonske vabe je bil v času leta v maju in začetku junija 2012 majhen, ker je bila tudi sicer populacija majskega hrošča na Otlci nad Ajdovščino, majhna. Poskusni ulov je kljub temu dal prve rezultate, ki so vidni v spodnjih preglednicah in nam bodo služili kot izhodišče za nadaljnje raziskave.

Preglednica 1: Skupni ulov hroščev poljskega majskega hrošča (*M. melolontha* L.) po spolu na svetlobnih vabah, Otlca, 3.5. – 19.6. 2012

Table 1: Total catch of common cockchafer bugs (*M. melolontha* L.) by sex in light traps, 3.5. – 19.6. 2012

	Bela svetloba	Zelena svetloba (520nm)
Samci	10	2
Samice	4	2

Skupni ulov hroščev poljskega majskega hrošča na svetlobne vabe z belo in zeleno svetlobo je pokazal večji ulov samcev na belo svetlobo. Ulov na zeleno svetlobo je bil majhen in ni potrdil podatkov iz literature. Datumi opazovanj in menjav atraktantov na alkoholno feromonskih vabah na Otlci so bili 10.5., 11.5., 12.5., 15.5., 17.5., 24.5., 25.5., 28.5., 1.6., 6.6., 7.6. in 19. 6.. Pogostost menjav smo uravnavali tudi glede na višino temperatur preko dneva in noči, saj je bilo v tem času relativno hladno, kar za let hroščev ni ugodno.

Preglednica 2: Skupni ulov hroščev poljskega majskega hrošča (*M. melolontha* L.) po spolu na različnih alkoholno feromonskih vabah, Otlca, 3.5. – 19.6. 2012

Table 2: Total catch of common cockchafer bugs (*M. melolontha* L.) by sex on different alcohol - pheromone traps, Otlica, 3.5. – 19.6. 2012

Atraktant	Skupni ulov Samci	Število samice
1) Čisti etanol	0	0
2) Toloquinon	2	0
3) Benzoquinon	0	0
4) Benzoquinon + toloquinon + cis-3-heksanol	8	2
5) Cis- 3 heksanol	4	2
6) Benzoquinon + toloquinon + trans-2-heksanol	0	0
7) Trans-2-heksanol	4	0
8) Benzoquinon + toloquinon + 3-etil-acetat	1	1
9) 3- etil acetat	6	0

4 SKLEPI

Rezultati ulova kažejo, da je odrasle majske hrošče najbolj privabljala alkoholno feromonska vaba 4 (benzoquinon + toloquinon + *cis* – 3 - heksanol), sledili pa sta alkoholni vabi 5 (*cis* – 3 - heksanol) in vaba 9 (3 - etil acetat)

Na podlagi zgoraj navedenih ugotovitev bomo v letu 2013 postavili večje število vab z atraktanti iz variant z uspešnim ulovom, da bi potrdili njihovo ustreznost pri širši uporabi pri spremljanju in zatiranju majskega hrošča v praksi

V letu 2013 pričakujemo večji let poljskih majskih hroščev na območju Črnega vrha nad Idrijo, tako da bomo lahko navedbe o preferenci zelene in bele svetlobe še enkrat preverili na večji populaciji majskih hroščev

5 ZAHVALA

Raziskava poteka v okviru projekta CRP V4-1104 z naslovom „Optimizacija in implementacija metod ter ukrepov za zmanjšanje škodljivosti ogrcev majskega hrošča v Sloveniji“ financiranega s strani MKO in ARRS.

6 LITERATURA

- Hegedus, R., Horvath, A., Horvath, G. 2006. Why do dusk-active cockchafers detect polarization in the green? The polarization vision in *Melolontha melolontha* is tuned to the high polarized intensity of downwelling light under canopies during sunset. *Journal of Theoretical Biology*, 238, 1: 230-244.
- Maceljki, M. 1999. Poljoprivredna entomologija. Čakovec, Zrinski: 150-152.
- Reinecke, A., Ruther, J., Hilker, M. 2005. Electrophysiological and behavioural responses of *Melolontha melolontha* to saturated and unsaturated aliphatic alcohols. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115, 1: 33-40.
- Ruther, J. et al. 2001. Quinones in cockchafers: additional function of a sex attractant as an antimicrobial agent. *Chemoecology*, 11, 4: 225-229.
- Vrabl, S. 1992. Škodljivci poljščin. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 19-22.

**PRVE NAJDBE TREH VRST NARAVNIH SOVRAŽNIKOV V SLOVENIJI:
PLENILSKE PRŠICE *Neoseiulus californicus* (Arachnida, Acari, Phytoseiidae) IN
PARAZITOIDNIH OS *Neochrysocharis formosus* (Insecta, Hymenoptera, Eulophidae)
in *Dibrachys microgastris* (Insecta, Hymenoptera, Pteromalidae)**

Stanislav TRDAN¹, Nickolas G. KAVALLIERATOS², Theodoros STATHAKIS³,
Serge KREITER⁴, Aleksandar STOJANOVIĆ⁵, Željko TOMANOVIĆ⁶, Tanja BOHINC⁷

^{1,7}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko,
poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

²Laboratory of Agricultural Entomology, Dept. of Entomology and Agricultural Zoology,
Benaki Phytopathological Institute, Attica, Greece

³Laboratory of Agricultural Zoology and Entomology, Agricultural University of Athens,
Athens, Greece

⁴Montpellier SupAgro, UMR CBGP (INRA/IRD/CIRAD/SupAgro), Campus International de
Baillarguet, Montferrier-sur-Lez Cedex, France

⁵Natural History Museum, Belgrade, Serbia

⁶Faculty of Biology, Institute of Zoology, Belgrade, Serbia

IZVLEČEK

V letu 2012 smo v Sloveniji prvič ugotovili zastopanost treh vrst naravnih sovražnikov, in sicer plenilske pršice *Neoseiulus californicus* (McGregor, 1954) in parazitoidnih os *Neochrysocharis formosus* (Westwood, 1833) ter *Dibrachys microgastris* (Bouche, 1834). Plenilsko pršico smo našli na treh različnih gostiteljskih rastlinah (lubenicah, jajčevcih in na jablani), parazitoidna osa *Neochrysocharis formosus* pa je bila ugotovljena v dveh rastlinjakih ter na njivi na prostem v Slovenski Istri. Pojav vrste *Dibrachys microgastris* smo zabeležili v Laboratoriju za entomologijo na Biotehniški fakulteti v Ljubljani, in sicer v posodah s pšeničnim zrnjem, ki so namenjene laboratorijskemu namnoževanju populacije črnega žitnega žužka (*Sitophilus granarius*). Zaradi širokega spektra gostiteljev obema parazitoidnima osama v aplikativnem biotičnem varstvu ne pripisujemo večjega gospodarskega pomena, medtem ko je plenilska pršica *Neoseiulus californicus* v tej zvezi pomemben biotični agens in bo v prihodnje našla mesto na Seznamu domorodnih vrst organizmov za namen biotičnega varstva rastlin.

Ključne besede: biotično varstvo rastlin, naravni sovražniki, plenilska pršica, parazitoidne ose

ABSTRACT

**FIRST RECORDS OF THREE NATURAL ENEMIES IN SLOVENIA: PREDATORY MITE
Neoseiulus californicus (Arachnida, Acari, Phytoseiidae) AND PARASITOID WASPS
Neochrysocharis formosus (Insecta, Hymenoptera, Eulophidae) AND *Dibrachys
microgastris* (Insecta, Hymenoptera, Pteromalidae)**

¹ prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² dr., 8 Stefanou Delta Street, Attica, Greece

³ dr., Iera Odos st 75, 11855 Athens, Greece

⁴ dr., CS 30016, 34988 Montferrier-sur-Lez Cedex, France

⁵ Njegoševa 51, 11000 Belgrade, Serbia

⁶ prof. dr., Studentski trg 16, 11000 Belgrade, Serbia

⁷ dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

In 2012, we established the first records of three beneficial insects in Slovenia, i.e. predatory mite *Neoseiulus californicus* (McGregor, 1954) and two parasitoid wasps, *Neochrysocharis formosus* (Westwood, 1833) and *Dibrachys microgastri* (Boche, 1834). Phytoseiid was found on three different host plant (watermelons, eggplants, and apple trees), while *Neochrysocharis formosus* was recorded in two greenhouses and in the open field in Slovenian coastal region. Presence of *Dibrachys microgastri* was detected in rearing containers filled with wheat grains, which are used for reproduction of population of the granary weevil (*Sitophilus granarius*). Due to the fact that both parasitoid wasps have wide spectrum of hosts we do not assign them the important impact in applied biological control, while predatory mite *Neoseiulus californicus* on the other hand is important biological control agents, therefore it will be placed to the List of indigenous organisms for the purpose of biological control.

Key words: biological control, beneficial organisms, predatory mite, parasitoid wasps

1 UVOD

Živež, pridelan na okoljsko sprejemljiv način, je pogosta želja vse večjega števila potrošnikov, zato se morajo temu prilagajati tudi pridelovalci gojenih rastlin. Pomemben sestavni del okoljsko sprejemljivih načinov pridelave živeža ali krme, na primer ekološke in integrirane pridelave, je tudi biotično varstvo rastlin. V Sloveniji je mogoče v ta namen trenutno uporabljati 24 vrst naravnih sovražnikov, to je plenilcev, parazitoidov, entomopatogenih ogorčic in gliv, ki so uvrščene na Seznam domorodnih vrst organizmov za namen biotičnega varstva rastlin, ki je sestavni del Pravilnika o biotičnem varstvu rastlin (Ur.l. RS, 45/06).

Vnos novih vrst škodljivcev, zmanjševanje števila registriranih sintetičnih insekticidov in nezadostna učinkovitost nekaterih domorodnih vrst naravnih sovražnikov zahtevajo kontinuirane raziskave zastopanosti novih domorodnih vrst naravnih sovražnikov, s katerimi bi lahko obogatili omenjeni seznam domorodnih vrst organizmov in na ta način vplivali na intenzivnejšo implementacijo naravnih sovražnikov v sisteme pridelave živeža, krme in okrasnih rastlin v Sloveniji.

V pričujočem prispevku predstavljamo rezultate vzorčenja domorodnih naravnih sovražnikov v letu 2012, z namenom širjenja Seznama domorodnih vrst organizmov za namen biotičnega varstva rastlin.

2 MATERIALI IN METODE DE LA

2.1 Vzorčenje plenilskih pršic

Med 29. avgustom in 7. septembrom 2012 smo v sklopu načrtnega vzorčenja škodljivih žuželk na dveh različnih lokacijah nabirali vzorce rastlin, kjer smo opazili poškodbe pršic prelk (Acari, Tetranychidae). Vzorce smo nabirali v Slovenski Istri (Korte) ter na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Dodatno vzorčenje je potekalo 2. oktobra 2012 v Kortah. V tem kraju smo v obeh časovnih terminih (29. avgusta in 2. oktobra) jemali vzorce listov jajčevca, gojenega na prostem. Nabrane liste smo shranili v plastične vrečke in jih v hladilni torbi odpeljali v Laboratorij za entomologijo na Biotehniški fakulteti v Ljubljani. 30. avgusta in 7. septembra 2012 smo na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete opazili močan pojav pršic prelk na več gostiteljskih rastlinah. Tako smo 30. avgusta nabrali liste jablan in liste lubenic (gojenih v rastlinjaku), 7. septembra pa smo nabrali samo liste lubenic. V plastičnih vrečkah smo jih s hladilno torbo prenesli v omenjeni laboratorij.

Liste rastlin, ki smo jih nabrali v določenem časovnem terminu in na izbrani lokaciji, smo pregledali pod stereomikroskopom, na listih najdene plenilske pršice pa smo shranili v mikrocentrifugirkah s 70 % etanolom.

2.2 Vzorčenje naravnih sovražnikov paradižnikovega molja

Nabiranje listov paradižnika je potekalo v dveh časovno različnih terminih, in sicer 29. avgusta 2012 in 2. oktobra 2012. 29. avgusta smo vzorce nabrali v rastlinjaku z vrtninami na območju Dragonje ter v rastlinjaku v Sečovljah, medtem ko smo v začetku oktobra nabrali vzorce listov paradižnika na njivi v vasi Korte. V rastlinjaku na območju reke Dragonje so poleg paradižnika gojili še druge plodovke, medtem ko smo na lokaciji, kjer so gojili paradižnik, na njivi opazili tudi jajčevce, cikorijo, ... Na posamezni lokaciji smo nabrali liste paradižnika, kjer so bile vidne poškodbe paradižnikovega molja. V vzorčenje smo zajeli celoten rastlinjak oziroma rastline paradižnika iz različnih delov rastlinjaka. Vzorcene liste smo shranili v plastične vrečke in jih v hladilni torbi prepeljali v Laboratorij za entomologijo na Biotehniški fakulteti v Ljubljani. V rastlinjaku v Sečovljah smo zabeležili veliko močnejši pojav paradižnikovega molja, vzorce iz te lokacije pa smo na enak način kot na prej omenjeni lokaciji prenesli v laboratorij, kjer smo jih razvrstili v več steklenih insektarijev (pokrili smo jih z gosto mrežo, da smo preprečili izlet metuljev in naravnih sovražnikov), glede na lokacijo najdbe. V insektarijih smo liste pustili približno 2-3 tedne, nato pa smo na dnu insektarijev poiskali parazitoidne ose, ki smo jih shranili v 70 % etanol.

2.3 Pregledovanje populacij skladiščnih škodljivcev na zastopanost naravnih sovražnikov

288

Pojav parazitoidnih os smo zabeležili konec oktobra 2012 v Laboratoriju za entomologijo na Biotehniški fakulteti v posodah s pšeničnim zrnjem, ki so namenjene laboratorijskemu namnoževanju črnega žitnega žužka (*Sitophilus granarius*). Pri pregledu posod smo našli 10 odraslih osebkov in jih shranili v 70 % etanolu.

2.4 Analiza vzorcev

Nabrane vzorce pršic smo analizirali v dveh različnih laboratorijih. Vrsto določitev dela vzorcev so izvedli v Laboratoriju za kmetijsko zoologijo in entomologijo Univerze za kmetijstvo v Atenah (Grčija, T. Stathakis), kjer so prvi potrdili zastopanost plenilske pršice *Neoseiulus californicus*. Preostale vzorce te pršice pa so analizirali na inštituciji CBGP (The Center for Biology and Management of Populations, S. Kreiter) v Montpellierju (Francija). Vrsto določitev parazitoidnih os, nabranih na listih paradižnika z močnim pojavom paradižnikovega molja, so izvedli v Narodnem muzeju v Beogradu (A. Stojanović), parazitoidne ose, nabrane na zrnju pšenice, pa so identificirali v Laboratoriju za kmetijsko entomologijo v Atenah (Grčija, N. Kavallieratos).

3 REZULTATI S PREDSTAVITVIJO NAJDENIH VRST IN DISKUSIJO

3.1 *Neoseiulus californicus* (Arachnida, Acari, Phytoseiidae)

V prvem terminu vzorčenja smo našli eno samico vrste *N. californicus*, v drugem terminu 8 samic in 2 nimfi, v tretjem terminu nabiranja vzorcev 6 samic, enega samca in 1 protonimfo, v v zadnjem terminu nabiranja pa smo našli 4 samice, enega samca in eno deuteronimfo (preglednica 1).

Preglednica 1: Prikaz števila najdenih osebkov pršice *Neoseiulus californicus*, s pripadajočimi datumi najdb, lokacijami in plenom

Datum	Kraj	Gostiteljska rastlina	Rastlinjak/ na prostem	Plen	Število/Stadij
29.8.2012	Korte	jajčevci	na prostem	<i>Tetranychus urticae</i>	1♀
30.8.2012	BF	jablana	na prostem	<i>Panonychus ulmi</i>	1♀
30.8.2012	BF	lubenice	rastlinjak	<i>Tetranychus urticae</i>	1♀
30.8.2012	BF	lubenice	rastlinjak	<i>Tetranychus urticae</i>	2♀♀, 1N
30.8.2012	BF	lubenice	rastlinjak	<i>Tetranychus urticae</i>	1♀
30.8.2012	BF	lubenice	rastlinjak	<i>Tetranychus urticae</i>	1♀
30.8.2012	BF	lubenice	rastlinjak	<i>Tetranychus urticae</i>	2♀♀, 1N
7.9.2012	BF	lubenice	rastlinjak	<i>Tetranychus urticae</i>	1♀
7.9.2012	BF	lubenice	rastlinjak	<i>Tetranychus urticae</i>	1PN
7.9.2012	BF	lubenice	rastlinjak	<i>Tetranychus urticae</i>	1♂, 1♀
7.9.2012	BF	lubenice	rastlinjak	<i>Tetranychus urticae</i>	3♀♀♀
7.9.2012	BF	lubenice	rastlinjak	<i>Tetranychus urticae</i>	1♀
2.10.2012	Korte	jajčevci	na prostem	<i>Tetranychus urticae</i>	1♀, 1♂
2.10.2012	Korte	jajčevci	na prostem	<i>Tetranychus urticae</i>	1♀
2.10.2012	Korte	jajčevci	na prostem	<i>Tetranychus urticae</i>	1DN
2.10.2012	Korte	jajčevci	na prostem	<i>Tetranychus urticae</i>	1♀
2.10.2012	Korte	jajčevci	na prostem	<i>Tetranychus urticae</i>	1♀

Legenda: ♀-samica; ♂-samec; N-nimfa, DN-deuteronimfa, PN-protonimfa, N-nimfa, BF – Biotehniška fakulteta v Ljubljani

289

Plenilske pršice iz družine Phytoseiidae spadajo med pomembne biotične agense, ki lahko uspešno sodelujejo pri zatiranju človeškim očem težko vidnim škodljivim organizmom iz taksonov Tetranychoida, Eriophyoidea, Thysanoptera in Homoptera (Stojnić *et al.*, 2002) v sadovnjakih, vinogradih, na zelenjadnicah, gojenih na prostem in v zavarovanem prostoru (Palevsky *et al.*, 1999), prehranjujejo pa se tudi z rastlinskim sokom in pelodom (Blackwood *et al.*, 2001).

Neoseiulus californicus (McGregor) spada med vrste plenilskih pršic, katere so že izvorno zastopane na območju Sredozemlja in na območjih s podobnim podnebjem po celem svetu. Glede na način prehranjevanja jo uvrščamo med skupino pršic tipa II-III, kar pomeni, da za svoj plen izbira specifične skupine fitofagnih organizmov. Omenjena plenilska vrsta se omenja kot uspešen biotični agens pri zatiranju pršic prelek (*Tetranychus* spp.), predvsem navadne pršice (*Tetranychus urticae*) (Kim *et al.*, 2012) in navadne sadne pršice (*Panonychus ulmi*) (El Taj *et al.*, 2012). Prehranjuje se lahko tudi s pelodom in drugimi malimi žuželkami (Ferragut Pérez *et al.*, 2010) ter z mehkožnimi pršicami.

Omenjena vrsta dobro prenaša tudi nizko zračno vlago (Weintraub in Palevsky, 2008) in visoke temperature (Ferragut Pérez *et al.*, 2010). Pri zanjo idealnih razmerah (15-35°C) in dostopnostjo vrste *Tetranychus urticae* (kot plena) ima lahko omenjena plenilska pršica do 28 rodov na leto (Weintraub in Palevsky, 2008).

Najdba vrste *N. californicus*, ki je znana tudi pod starim imenom *Amblyseius californicus*, je bila prvič omenjena v Kaliforniji (Zhang, 2003). Danes jo najdemo tudi v Srednji in Južni Ameriki in v Južni Evropi (Zhang, 2003; Walzer *et al.*, 2007), kar kaže, da ji bolj ugajajo aridna območja. Pojavlja se na sadnih vrstah (marelice, breskve, jabolane, hruške, kivi, citrusi, vinska trta), poljščinah (soja, koruza, bombaž,...) in na zelenjadnicah (jajčevci, bučke, paprika, solata,...) (Ferragut Pérez *et al.*, 2010). Nekatere rase so zelo odporne na

fitofarmacevtska sredstva, kar omogoča lažjo aplikacijo tega biotičnega agensa v integriranem varstvu rastlin (Walzer *et al.*, 2007). Vrsta *N. californicus* velja med pršicami iz družine Phytoseiidae za tržno najbolj dostopno (Walzer *et al.*, 2007). Glede na podatke EPPO je uporaba omenjene vrste kot komercialnega biotičnega pripravka že dovoljena v Belgiji, Nemčiji, Franciji, Grčiji, Italiji, Španiji, Švici, Tuniziji in na Češkem, Danskem, Finskem, Nizozemskem (List of biological control agents ..., 2012).

3.2 *Neochrysocharis formosus* (Insecta, Hymenoptera, Eulophidae)

V insektariju je iz listov paradižnika, močno poškodovanih od gosenic paradižnikovega molja, izletelo 6 odraslih osebkov, od tega 3 samice in trije samci (preglednica 2).

Preglednica 2: Prikaz števila najdenih osebkov vrste *Neochrysocharis formosus*, s pripadajočimi datumi najdb, lokacijami in plenom

Datum	Kraj	Gostiteljska rastlina	Rastlinjak/ na prostem	Plen	Število/Stadij
29.8.2012	Sečovlje	paradižnik	rastlinjak	<i>Tuta absoluta</i>	2♀♀, 1♂
29.8.2012	dolina Dragonje	paradižnik	rastlinjak	<i>Tuta absoluta</i>	1♀
2.10.2012	Korte	paradižnik	na prostem	<i>Tuta absoluta</i>	2♂♂

Legenda: ♂-samec; ♀-samica

290

Družina Eulophidae je v Evropi vrstno zelo številčno zastopana, saj literaturni podatki potrjujejo zastopanost 1100 vrst; med temi najdemo 29 vrst, ki so bile v Evropo vnesene zaradi potreb po biotičnem varstvu škodljivih organizmov (Rasplus *et al.*, 2010). Vrsta *Neochrysocharis formosus* (Westwood, 1833) spada med parazitoide, ki se pojavljajo po celem svetu. Omenja se kot naravni sovražnik listnih zavrtalk (Diptera), zavrtačev stebela in listov iz redov Coleoptera, Diptera (najbolj je znan kot naravni sovražnik listnih zavrtalk [*Liriomyza* spp.]) in Lepidoptera, ki se hranijo z gojenimi in samonikli vrstami rastlin. Načini parazitiranja gostiteljev so pri vrsti *N. formosus* lahko različni, saj lahko parazitira kot samostojen osebek ali v kolonijah. Omenjena parazitoidna vrsta spada med pomembne naravne sovražnike paradižnikovega molja v Južni Ameriki, saj so v enem od poskusov ob njeni zastopanosti ugotovili 5 % parazitiranost ličink tega gospodarsko pomembnega škodljivca (Zappala *et al.*, 2012). Največja intenzivnost parazitiranja je bila dosežena proti koncu rastne dobe. Obravnavana parazitoidna osa se pojavlja v rastlinjakih, kot tudi na prostem (Luna *et al.*, 2011; Zappala *et al.*, 2012). Predstavniki reda *Neochrysocharis* spadajo med zelo učinkovite polifagne parazitoide, napadajo pa jajčeca in ličinke ter s tem škodljivcem onemogočajo nadaljni razvoj. Vrsta *N. formosus* je na Floridi ena od najbolj pogostih vrst, ki napadajo listne zavrtalke.

Rezultati raziskav kažejo, da razvoj omenjene vrste od jajčeca do odraslega osebkov pri 25°C traja 14,4 dni, če pa so samice preskrbljene z ustrežno hrano in medom, lahko njihov življenjski krog pri 22,2°C traja 22 dni, medtem ko je dolžina razvojnega kroga pri samcih 7,5-11,1 dni pri temperaturi 21,6°C (Saleh *et al.*, 2010). Omenjena vrsta spada med endoparazitoide (Saleh *et al.*, 2010; Hernández *et al.*, 2011) in ji za razvoj najbolj ustrezajo ličinke zavrtalk v drugi in tretji razvojni stopnji. Ena samica lahko v laboratorijskih razmerah ubije (s hranjenjem in ovipozicijo) 317 ličink (Hernández *et al.*, 2011). Iz Srbije poročajo, da se omenjena vrsta pojavlja tudi kot naravni sovražnik platanovega listega zavrtača (*Phyllonorycter platani*) (Marković in Stojanović, 2012). Glede na podatke Fauna Europea (2012) je omenjena parazitoidna osa med drugim zastopana v Avstriji, Nemčiji, Švici, Španiji, Italiji in na Hrvaškem, Češkem, Madžarskem in Nizozemskem.

Zatiranje paradižnikovega s pomočjo biotičnih agensov predstavlja vse večji pomen v državah, kjer omenjena škodljiva vrsta predstavlja zelo veliko škodo. Gospodarsko pomembna škodljiva vrsta, ki je v državah Južne Amerike zastopana že od 1970 leta, se je v Evropi prvokrat pojavila v 2006 v Španiji, v Italiji pa se pojavlja že od leta 2008 (Ferracini *et al.*, 2012). Paradižnikov molj je bil v Sloveniji prvič zabeležen leta 2009 (Pajk in Trdan, 2011), uvrščen pa je na EPPO A2 seznam škodljivih organizmov (EPPO standards ..., 2012). Med pomembnejšimi naravnimi sovražniki paradižnikovega molja v Italiji se sicer najpogosteje omenjajo stenice iz družin Anthocoridae, Miridae, Nabidae ter parazitoidne ose iz družin Braconidae, Ichneumonidae, Eulophidae in Trichogrammatidae (Luna *et al.*, 2012).

3.3 *Dibrachys microgastri* (Insecta, Hymenoptera, Pteromalidae)

Med najdenimi osebkami vrste *Dibrachys microgastri* smo našli 6 samic in 4 samce.

V rod *Dibrachys* Förster, 1856, uvrščamo male parazitoidne ose, ki so večinoma holarktičnega izvora. Med znanimi 21 vrstami je najpogosteje omenjena *D. cavus* (Peters in Baur, 2011). Podatki kažejo, da se omenjena parazitoidna osa pojavlja na več kot 100 gostiteljih, holo- in hemimetabolnih žuželkah, po nekaterih podatkih pa se število gostiteljskih vrst giblje okoli 200 (Chuche *et al.*, 2006; Ruther *et al.*, 2011), in sicer je navedena kot potencialni naravni sovražnik žuželk iz reda metuljev (Lepidoptera), kožekrilcev (Hymenoptera), hroščev (Coleoptera) in dvokrilcev (Diptera) (Ruther *et al.*, 2011). Vrsta napada različne razvojne stadije žuželk (Peters in Baur, 2011).

Glede na doslej znane podatke ima omenjena vrsta več sinonimov, in sicer *Dibrachys boarmiae*, *Dibrachys clisiocampae* in *Dibrachys cavus* (Peters in Baur, 2011). Obravnavana je kot fakultativni hiperparazitoid redov Hymenoptera in Diptera, kot fakultativni sekundarni hiperparazitoid pa se pojavlja tudi na ektoparazitoidih. Prav tako lahko vrsta napada tudi druge hiperparazitoidne oziroma terciarni parazitoid (Peters in Baur, 2011). Svoje žrtve parazitira v kolonijah. Med drugim omenjena parazitoidna osa napada tudi križastega grozdnega sukača (*Lobesia botrana*), in sicer navadno pred zabubljenjem (Chuche *et al.*, 2006). Strokovnjaki tudi navajajo, da omenjena osa parazitira gosenice voščene večče (*Galleria mellonella* L.) (Gülel, 2009). Parazitoidna osa *D. microgastri*, katere samica meri v dolžino 1700–2950 µm, medtem ko je telo samcev krajše, 1450–2360 µm, je razširjena v 57 državah, med drugim na Hrvaškem, Madžarskem, v Italiji, na Portugalskem, Angliji, Turčiji, Cipru, Indiji, Pakistanu, Alžiriji, Maroku, Tuniziji, Kanadi, ZDA. Zastopana je tudi na Novi Zelandiji in v Avstraliji (Peters in Baur, 2011). Glede na podatke Fauna Europea (2012) je omenjena vrsta med drugim zastopana v Španiji, Avstriji in na Nizozemskem ter Danskem.

Odpornost skladiščnih škodljivcev na insekticide povzroča kmetom in zaposlenim v živilski industriji vse več težav, zato se število raziskav uporabe naravnih sovražnikov pri zatiranju skladiščnih škodljivcev kontinuirano povečuje (Adarkwah *et al.*, 2012).

4 SKLEPI

Kljub temu, da je v Sloveniji za zatiranje pršic prekl registriranih več insekticidov, tako sintetičnih (pripravki na podlagi abamektina, tebufenpirada tiametoksama) kot okoljsko sprejemljivejših (pripravki na podlagi olja navadne ogrščice, piretrina) (Seznam registriranih ..., 2013), pa na seznamu tržno dostopnih biotičnih pripravkov, še vedno ni takšnih s plenilskimi pršicami (Seznam komercialnih pripravkov..., 2011).

V naši raziskavi najdena plenilska pršica *Neoseiulus californicus* ima velik biotični potencial za zatiranje pršic prekl. Višja temperatura in nižja zračna vlaga imata pozitiven vpliv na razvoj tega biotičnega agensa (Ahn *et al.*, 2010), kar smo ugotovili tudi pri našem vzorčenju,

saj smo največje število omenjenih pršic našli v prav takšnih vremenskih razmerah. Zastopanost vrste *N. californicus* smo potrdili tako v Slovenski Istri kot tudi v Ljubljanski kotlini. Omenjeno plenilsko pršico v obliki rase, ki ne prezimi, najdemo v biotičnem pripravku Spical, ki ga trži nizozemsko podjetje Koppert (Spical, 2013). Uporabnost pršice *N. californicus* v integriranem varstvu rastlin je precejšnja predvsem zaradi nizke občutljivosti na fitofarmaceutska sredstva (Walzer *et al.*, 2007).

Za zatiranje paradižnikovega molja so v Sloveniji registrirani trije insekticidi (Seznam registriranih ..., 2013), njihova učinkovitost pa je večkrat vprašljiva in je odvisna od razvojnega stadija omenjene škodljive vrste (Zappala *et al.*, 2012). Tudi zato pomen parazitodnih os za zatiranje paradižnikovega molja pridobiva na pomenu (Zappala *et al.*, 2012), čeprav med naravne sovražnike tega gospodarsko pomembnega škodljivega metulja uvrščamo tudi predstavnike iz reda Hemiptera in tudi nekatere plenilske pršice (*A. swirskii* in *A. cucumeris*) (Desneux *et al.*, 2010). Kljub temu, da je najdena parazitoidna osa prvotno naravni sovražnik listnih zavrtalk (*Liriomyza* spp.) iz reda Diptera (Hernández *et al.*, 2011), pa njena učinkovitost za zatiranje paradižnikovega molja, ki je sicer prav tako listna zavrtalka, a iz reda Lepidoptera, ni zanemarljiva (Luna *et al.*, 2011; Zappala *et al.*, 2012).

Širok spekter gostiteljev parazitoidne ose *Dibrachys microgastri* (Peters in Baur, 2011) lahko v praksi predstavlja oviro. Naša najdba te vrste kaže na njeno precejšnjo učinkovitost zatiranja črnega žitnega žužka, kljub temu pa ne priporočamo njene širše uporabe, kar bi lahko veljalo za dve ožje specializirani parazitoidni osi, *Anisopteromalus calandrae* (Howard) in *Lariophagus distinguendus* (Forster) (Belda in Riudavets, 2012).

Med najdenimi vrstami naravnih sovražnikov ima največji biotični potencial plenilska pršica, ki je v tujini že tržno dostopna v namen zatiranja vseh razvojnih stadijev navadne pršice in rdeče sadne pršice. Zanj bomo v letu 2013 izvedli postopek za uvrstitev na Seznam domorodnih vrst organizmov za namen biotičnega varstva rastlin. Obe najdeni parazitoidni vrsti nista uvrščeni na Appendix II Seznama biotičnih agensov, ki so pogosto uporabljeni v državah EPPO (orig. List of biological control agents widely used in the EPPO region), zato tudi nista del Seznama tujerodnih vrst organizmov na namen biotičnega varstva rastlin v Sloveniji. Njuna glavna hiba je preširok spekter gostiteljev, zato ju tudi v prihodnje na bo mogoče uporabljati v biotičnem varstvu rastlin.

5 ZAHVALA

Prispevek je nastal s finančno pomočjo Ministrstva za kmetijstvo in okolje – Uprave RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin v okviru strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin. Za pomoč pri vzorčenju naravnih sovražnikov na Obali se zahvaljujemo dr. Ivanu Žezlini in Matjažu Jančarju iz KGZS – zavod Nova Gorica.

6 LITERATURA

- Adarkwah, C., Obeng-Ofori, D., Buttner, C., Reichmuth, C., Scholler, M. 2012. Potencial of *Lariophagus distinguendus* (Forster) (Hymenoptera: Pteromalidae) to suppress the maize weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) in bagged and bulk stored maize. *Biological Control*, 60, 2: 175-181.
- Ahn, J.J., Kim, K.W., Lee, J.H. 2010. Functional response of *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on strawberry leaves. *Journal of Applied Entomology*, 134: 98-104.
- Belda, C., Riudavets, J. 2012. Reproduction of the parasitoids *Anisopteromalus calandrae* (Howard) and *Lariophagus distinguendus* (Forster) on arenas containing a mixed population of the coleopteran pests *Sitophilus oryzae* and *Rhyzopertha dominica*. *Journal of Pest Science*, 85, 3: 381-385.

- Blackwood, J.S., Scausberger, P., Croft, B.A. 2001. Prey-stage preference in generalist and specialist phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) when offered *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) eggs and larvae. *Environ. Entomol.*, 30, 6: 1103-1111.
- Chuche, J., Xuéreb, A., Thiéry, D. 2006. Attraction of *Dibrachy cavus* (Hymenoptera: Pteromalidae) to its host frass volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 32: 2721-2731.
- Desneux, N., Wajnberg, E., Wyckhuys, K.A.G., Burgio, G., Arpaia, S., Narváez-Vasquez, C.A., González-Cabrera, J., Catalán Ruescas, D., Tabone, E., Frandon, J., Pizzol, J., Poncet, C., Cabello, T., Urbaneja, A. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science*, 83: 197-215.
- El Taj, H.F., Jung, C. 2012. Effect of temperature on the life-history traits of *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) fed on *Panonychus ulmi*. *Experimental and Applied Acarology*, 56,3: 247-260.
- EPPO Standards. 2012. EPPO A1 and A2 lists of pests recommended for regulation as quarantine pests. PM ½ (21) English. European and Mediterranean Plant Protection Organization, France. [http://archives.eppo.int/EPPOStandards/PM1_GENERAL/pm1-02\(21\)_A1A2_2012.pdf](http://archives.eppo.int/EPPOStandards/PM1_GENERAL/pm1-02(21)_A1A2_2012.pdf) (8.1.2013)
- Fauna Europea. *Dibrachys microgastri*. 2012. http://www.faunaeur.org/distribution_table.php (9.1.2013)
- Fauna Europea. *Neochrysocharis formosa*. 2012. http://www.faunaeur.org/full_results.php?id=72063 (9.1.2013)
- Ferracini, C., Ingegno, B.L., Navone, P., Ferrari, E., Mosti, M., Tavella, L., Alma, A. 2012. Adaptation of indigenous larval parasitoids to *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in Italy. *Journal of Economic Entomology*, 105, 4: 1311-1319.
- Ferragut Pérez, F., Pérez Moreno, I., Irada Calvo, V.M., Escudero Comomar, L.A. 2010. Ácaros Depredadores en las plantas cultivadas. Familia Phytoseiidae. Ediciones Agrotécnicas. 202 str. [v španščini]
- Güel, A. 2009. Studies on the biology of *Dibrachys boarmiae* (Walker) (Hymen., Pteromalidae) parasitic in *Galleria mellonella* L. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 94, 1-5:138-149.
- Kim, T., Ahn, J.J., Lee, J.H. 2012. Age- and temperature-dependent oviposition model of *Tetranychus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) with *Tetranychus urticae* as prey. *Journal of Applied Entomology*. Doi: 10.1111/j. 1439-0418.2012.01734.x
- Hernández, R., Guo, K., Harris, M., Liu, T.X. 2011. Effects of selected insecticides on adults of two parasitoid species of *Liriomyza trifolii*: *Ganaspidium nigrimanus* (Figitidae) and *Neochrysocharis formosa* (Eulophidae). *Insect Science*, 18: 512-520.
- List of biological control agents widely used in the EPPO region. Appendix I. EPPO Standards on Safe use of Biological Control – PM 6/3. 2012. http://archives.eppo.int/EPPOStandards/biocontrol_web/bio_list.htm#biolist (9.1.2013)
- Luna, M.G., Wada, V.I., Salle, J.L., Sánchez, N.E. 2011. *Neochrysocharis formosa* (Westwood) (Hymenoptera: Eulophidae), a newly recorded parasitoid of the tomato moth, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), in Argentina. *Neotropical Entomology*, 40, 3: 412-414.
- Marković, Č., Stojanović, A. 2012. Parasitoids of *Phyllonorycter platani* (Staudinger) (Lepidoptera, Gracillariidae) in Serbia. *Journal of Plant Studies*, 1, 1:79-84.
- Pajk, P., Trdan, S. 2011. Potencialna možnost uporabe biotičnih agensov v rastlinjakih za varstvo rastlin pred paradižnikovim moljem (*Tuta absoluta* Povolny) V: Maček, Jože (ur.), Trdan, Stanislav (ur.). Zbornik predavanj in referatov 10. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Podčetrtek, 1.-2. marec 2011. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije:113-119.
- Palevsky, E., Reuveny, H., Okonis, O., Gerson, U. 1999. Comparative behavioural studies of larval and adult stages of the phytoseiids (Acari: Mesostigmata) *Typhlodromus athiasae* and *Neoseiulus californicus*. *Experimental and Applied Acarology*, 23: 467-485.
- Peters, R.S., Baur, H. 2011. A revision of the *Dibracys cavus* complex (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae). *Zootaxa*, 2937: 1-30.
- Rasplus, J.Y., Villemant, C., Paiva, M.R., Delvare, G., Roques, A. 2010. Hymenoptera. Chapter 12. V: Arthropod invasions in Europe. Roques, A. (ur.). *BioRisk*, 4, 2: 699-776.
- Ruther, J., Döring, M., Steiner, S. 2011. Cuticular hydrocarbons as contact sex pheromone in the parasitoid *Dibrachys cavus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 140: 59-68.
- Saleh, A., Allawi, T.F., Ghabeish, I. 2010. Mass rearing of *Neochrysocharis formosa* (Westwood) (Eulophidae: Hymenoptera), a parasitoid of leafminers (Agromyzidae: Diptera). *Journal of Pest Science*, 83: 59-67.

- Sato, M.E., Da Silva, M.Z., De Souza Filho, M.F., Matioli, A.L., Raga, A. 2007. Management of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in strawberry fields with *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) and acaricides. *Experimental and Applied Acarology*, 42: 107-120.
- Seznam komercialnih pripravkov za biotično varstvo rastlin in podjetij, ki imajo dovoljenje za trženje teh pripravkov v RS. 2011. Ministrstvo za kmetijstvo in okolje. Fitosanitarna uprava RS. http://www.furs.si/law/slo/zvr/Biot_varstvo.asp (9.1.2013)
- Seznam registriranih fitofarmacevtskih sredstev na dan 9.1.2013.2013. Ministrstvo za kmetijstvo in okolje. Fitosanitarna uprava Republike Slovenije. <http://spletni2.furs.gov.si/FFS/REGSR/index.htm> (9.1.2013)
- Spical. 2013. Koppert. Biological Systems. <http://www.koppert.com/pests/mites/spider-mite/products-against-spider-mites/detail/spical-1/> (10.1.2013)
- Stojnić, B., Panou, H., Papadoulis, G., Petanović, R., Emmanouel, N. 2002. The present knowledge and new records of Phytoseiid and Tydeid mites (Acari: Pytoseiidae, Tydeidae) for the fauna of Serbia and Montenegro. *Acta Entomologica Serbica*, 7, 1-2: 111-117.
- Walzer, A., Castagnoli, M., Simoni, S., Ligouri, M., Palevsky, E., Scausberger, P. 2007. Intraspecific variation in humidity susceptibility of the predatory mite *Neoseiulus californicus*: survival, development and reproduction. *Biological Control*, 41: 42-52
- Weintraub, P., Palevsky, E. 2008. Evaluation of the predatory mite, *Neoseiulus californicus*, for spider mite control on greenhouse sweet pepper under hot arid field conditions. *Experimental and Applied Acarology*, 45: 29-37.
- Zappala, L., Bernardo, U., Biondi, A., Cocco, A., Deliperi, S., Delrio, G., Giorgini, M., Pedata, P., Rapisarda, C., Tropea Garcia, G., Siscaro, G. 2012. Recruitment of native parasitoids by the exotic pest *Tuta absoluta* in Southern Italy. *Bulletin of Insectology*, 65, 1:51-61.

PREUČEVANJE UČINKOVITOSTI BIOFUMIGACIJE ZA ZATIRANJE STRUN (*Agriotes* spp., Coleoptera, Elateridae) V KROMPIRJU

Žiga LAZNIK¹, Tanja BOHINC², Matej VIDRIH³, Filip VUČAJNK⁴, Sebastjan RADIŠEK⁵,
Stanislav TRDAN⁶

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

²Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Žalec

IZVLEČEK

V poljskem bločnem poskusu v letih 2011 in 2012 smo na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete (LP BF) v Ljubljani preučevali biofumigantno učinkovitost različnih vrst križnic za zatiranje strun na njivi s krompirjem. V prvem letu smo na njivo posadili krompir cv. Avalon, v drugem letu pa cv. Stirling. V prvem letu smo pred sajenjem krompirja zaorali zmulčeno zeleno gmoto krmne repice (*Brassica rapa* var. *silvestris*), oljne redkve (*Raphanus sativus* var. *oleiformis*) in bele gorjušice (*Sinapis alba*), v drugem letu pa zeleno gmoto omenjenih treh vrst ter krmnega ohrovta (*Brassica oleracea* convar. *acephala*) in krmne ogrščice (*Brassica napus* var. *napus*). V prvem letu smo najvišji skupni pridelek (30,1 t/ha) ugotovili v obravnavanju z belo gorjušico, najmanjšega pa v obravnavanju s krmno repico (24,5 t/ha). Pridelek največjih gomoljev (> 5 cm) je bil največji v obravnavanju z belo gorjušico (17,5 t/ha), najmanjši pa v obravnavanju s krmno repico (12,5 t/ha). Največjo maso najmanjših gomoljev (< 4 cm) smo ugotovili v obravnavanju z oljno redkvijo (5,8 t/ha), najmanjšo pa v obravnavanju z belo gorjušico (4,7 t/ha). Največje število poškodb (lukenj) zaradi strun smo ugotovili v največjih gomoljih, pri čemer med križnicami in negativno kontrolo nismo ugotovili signifikantnih razlik. Oddaljenost od roba njive je imela v letu 2011 pomemben vpliv na število poškodb na gomoljih, saj je bilo lukenj v neposredni bližini travnika na gomoljih v povprečju največ (6,8/gomolj), z oddaljevanjem od roba pa se je njihovo število zmanjševalo (1,5/gomolj v oddaljenosti od 3,75 do 7,5 m od roba njive in 0,4/gomolj v oddaljenosti od 7,5 do 11,25 m od roba njive). Rezultati poskusa nakazujejo možnost zatiranja strun le na robnem območju njive, s čimer bi bila gospodarnost pridelave krompirja večja, pridelava pa bi bila bolj okoljsko sprejemljiva. V letu 2012 smo največji skupni pridelek (53,8 t/ha) in največji pridelek največjih gomoljev (45,2 t/ha) ugotovili v obravnavanju z oljno redkvijo, najmanjši skupni pridelek (46,8 t/ha) in najmanjši pridelek največjih gomoljev (38,7 t/ha) pa v obravnavanju s krmno ogrščico.

Ključne besede: biofumigacija, strune, krompir, krmna repica, oljna redkev, krmna ogrščica, krmni ohrovt, bela gorjušica, pridelek, poškodbe

ABSTRACT

RESEARCH ON THE EFFICACY OF BIOFUMIGATION IN CONTROLLING WIREWORMS (*Agriotes* spp., Coleoptera, Elateridae) IN POTATO

¹ doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² dr., prav tam

³ doc. dr., prav tam

⁴ doc. dr., prav tam

⁵ dr., Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec

⁶ prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

In 2011 and 2012, we studied the biofumigation efficacy of different Brassica species in controlling wireworms on the potato field in field block experiment on Laboratory field of Biotechnical Faculty in Ljubljana. In the first experimental year we planted potato variety Avalon and in the second year variety Stirling. Before the start of the potato planting in the first year we ploughed the mulched green biomass of turnip rape (*Brassica rapa* var. *silvestris*), oilseed radish (*Raphanus sativus* var. *oleiformis*) and white mustard (*Sinapis alba*) and the second year beside the green biomass of first three cover crops also fodder kale (*Brassica oleracea* L. convar. *acephala*) and oilseed rape (*Brassica napus* var. *napus*). In the first experimental year we gained the highest yield of potato (30.1 t/ha) in treatment with white mustard and the lowest one in treatment with turnip rape (24.5 t/ha). Yield of largest tubers (> 5 cm) was attained in treatment with white mustard (17.5 t/ha) and the lowest in treatment with turnip rape (12.5 t/ha). The largest yield of smallest tubers (< 4 cm) we determined in treatment with oilseed radish (5.8 t/ha) and the lowest one in treatment with white mustard (4.7 t/ha). The highest extent of injuries (holes) due to the wireworms activity we established in largest tubers with no significant differences when compared brassicas and negative control. The distance from the field edge had in 2011 an important influence on the number of holes on tubers as in the vicinity of grassland the number of holes on tubers was in average the highest (6.8/tuber) and with going away from the edge their number decreased (1.5/tuber in the distance from 3.75 to 7.5 m away from the field edge and 0.4/tuber in the distance from 7.5 to 11.25 m from the field edge). Results of the experiment indicate the possibility of controlling wireworms only on the edge area of the field and this could also lead to better economical output of potato production and its environmental acceptability. In 2012, we gained the highest total potato yield (53.8 t/ha) and the highest yield of largest tubers (45.2 t/ha) in treatment with oilseed radish and the lowest ones (46.8 t/ha, and 38.7 t/ha, respectively) in treatment with oilseed rape.

Key words: biofumigation, wireworms, potato, turnip rape, oilseed radish, oilseed rape, fodder kale, white mustard, yield, damage

1 UVOD

Na ozemlju Slovenije živi okoli 140 vrst pokalic (Elateridae, Coleoptera), kar je v primerjavi s srednjo Evropo, kjer je znanih 176 vrst, na tako majhnem prostoru zelo veliko. S kmetijskega vidika so pomembne vrste iz rodu *Agriotes*, katerih ličinke (strune) povzročajo škodo na različnih poljščinah, vrtninah in okrasnih rastlinah ter tudi v semenskih posevkih trav, na deteljščih in lucerniščih, ko se hranijo s podzemnimi deli rastlin ali se vanje zavrtajo (Kuhar in Alvarez, 2008).

Gospodarska škoda, ki jo povzročijo strune na mladih posevkih, je lahko zelo velika. Ta iz leta v leto niha, povezana pa je z mnogimi dejavniki (Jansson in Lecrone, 1991). Glavni dejavniki so število strun v tleh, sklop poljščin, čas setve, kolobar, obdelava in vrsta tal. Mnogi pridelovalci strune zatirajo z uporabo talnih insekticidov, ki pa lahko rušijo ravnotežje talnega ekosistema, zato se znanost na področju zatiranja talnih škodljivcev razvija predvsem v smeri iskanja alternativnih načinov njihovega zatiranja.

Eno od tovrstnih metod predstavlja tudi t.i. zatiranje talnih škodljivcev z metodo biofumigacije. Biofumigacija je način varstva rastlin, ki za zatiranje talnih škodljivih organizmov uporablja hlapljive kemične snovi (alelokemikalije), ki se izločajo pri razgradnji zelinja predhodno sejanih rastlin (dosevki) (Furlan s sod., 2010). Sam postopek biofumigacije se začne, ko začenjo zaorani in še prej na drobno zrezljani nadzemski in podzemni deli izbranih vrst križnic pri razpadanju (glukozidni hidrolizi) izločati sekundarne snovi. Križnice, katerih pomen se v zadnjem času rastlinske proizvodnje ponovno poudarja, so kot biofumiganti sposobne oblikovati med 30 in 40 različnih glukozinolatov, ki nato v

kombinaciji z drugimi dejavniki negativno vplivajo na pojav talnih škodljivcev in povzročiteljev bolezni (Furlan s sod., 2010).

V članku so predstavljeni rezultati bločnega poskusa, ki se je v letih 2011 in 2012 izvajal na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete (LP BF) v Ljubljani. V omenjeni raziskavi smo preučevali biofumigantno učinkovitost različnih vrst križnic za zatiranje strun na njivi s krompirjem.

2 MATERIALI IN METODE DELA

2.1 Poskusna enota

V letih 2011 in 2012 smo na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani (46°04'N, 14°31'E, 299 m alt.) izvedli poljski poskus uporabe treh (2011) oz. petih (2012) vrst križnic z namenom preučevanja njihovega biofumigantnega delovanja na strune na njivi krompirja. Preučevane križnice (krmna repica [25 kg/ha], oljna redkev [30 kg/ha], krmna ogrščica [20 kg/ha], krmni ohrovt [10 kg/ha] in bela gorjušica [25 kg/ha]) smo na njivo posejali 22. marca 2011 oz. 25. marca 2012. Velikost celotne njive je bila 1764 m². Velikost parcele je bila 5,6 x 15,5 m. Njiva je bila razdeljena na tri bloke, znotraj vsakega bloka pa je bilo v letu 2011 5 obravnavanj; krmna repica, oljna redkev, bela gorjušica, negativna kontrola, pozitivna kontrola oz. v letu 2012 7 obravnavanj (krmna repica, oljna redkev, bela gorjušica, krmni ohrovt, krmna ogrščica, negativna kontrola, pozitivna kontrola). Vsako obravnavanje je bilo znotraj bloka ponovljeno trikrat glede na rob njive. Rob njive (levi, sredina, desni) je sestavljalo 5 vrst.

2.2 Agrotehnični ukrepi

Njiva je bila zmulčena 18. maja 2011 (1. maj 2012), tega dne pa smo tudi zeleno maso zaorali v tla. Krompir je bil sajen 1. junija 2011 (3. maj 2012) z navadnim sadilnikom za krompir. Sorta krompirja je bila v letu 2011 Avalon (Agrico, Nizozemska; uvoznik za Slovenijo: Interseme d.o.o., Ljubljana), medtem ko smo v letu 2012 posadili krompir sorte Stirling (Agrico, Nizozemska; uvoznik za Slovenijo: Interseme d.o.o., Ljubljana). Vznik krompirja je bil enakomeren in brez časovnega zamika. Prvo škropljenje, ki smo ga opravili na nasadu krompirja je bilo opravljeno 25.6. 2011 (25.5. 2012). Uporabljen je bil herbicid Sencor WG 70 (aktivna snov [a.s.] metribuzin: 0,75 kg/ha; proizvajalec: Bayer CropScience, Leverkusen, Germany; uvoznik: Bayer d.o.o., Ljubljana, Slovenia) za zatiranje plevelov. 30.6. 2011 (30.5. 2012) je bil uporabljen tudi insekticid Force 1,5 G (Force 1,5 G: 5 kg/ha; a.s. teflutrin; proizvajalec: Syngenta, Basle, Switzerland; uvoznik: Syngenta Agro d.o.o., Ljubljana, Slovenia), vendar samo na obravnavanju »pozitivna kontrola« iz poskusne sheme. Isti dan je bil krompir tudi osut. Nasad krompirja je bil konec julija pred začetkom cvetenja in takrat je bila višina cime med 45 in 50 cm. Krompir je bil preventivno škropljen pred pojavom krompirjeve plesni (*Phytophthora infestans* [Mont.] de Bary) tudi s fungicidi; Melody duo (2,5 kg/ha) (a.s. iprovalicarb-5.5% and propineb-61.3 %) proizvajalec: Bayer CropScience; uvoznik: Bayer d.o.o.) 5. julija 2011, 30. julija 2011, 20. junija 2012 in 14. julija 2012. Zaradi nevarnosti pojava koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) smo krompir poškropili z insekticidom Actara 25 WG (60-80 g/ha) (a.s. tiametoksam; proizvajalec: Syngenta, Basle, Switzerland; uvoznik: Syngenta Agro d.o.o., Ljubljana, Slovenia) 1. julija 2011 in 15. junija 2012. S herbicidom Basta (a.s. glufosinat-amonijeva sol-15 %) proizvajalec: Bayer CropScience; uvoznik: Bayer d.o.o.) smo 5. avgusta 2011 in 25. avgusta 2012 posušili cimo krompirja. Krompir smo izkopal 20. avgusta in 11. septembra 2012. Sortiranje krompirja je potekalo enako kot v raziskavi Laznik s sod. (2010). Iz vsakega obravnavanja smo naključno izbrali 15 gomoljev, na katerih smo šteli luknje, ki so jih napravile strune.

2.3 Statistična analiza

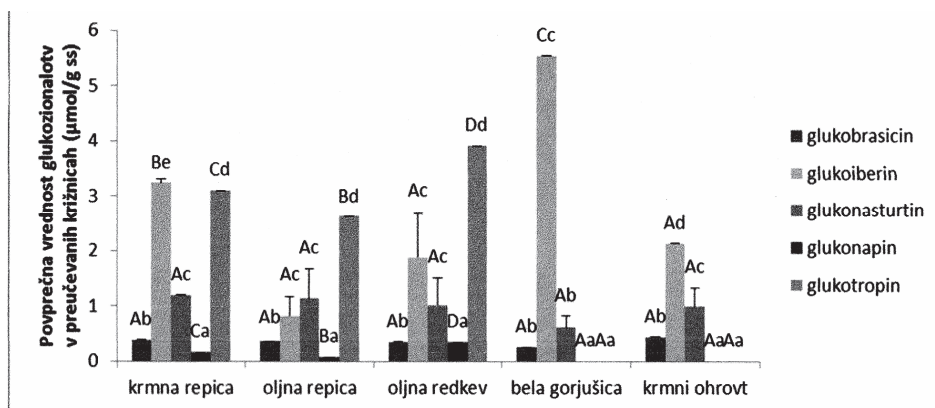
Statistična analiza je opisana v prispevku Laznik s sod. (2010).

3 REZULTATI

3.1 Vsebnost glukozinolatov v preučevanih križnicah

V sklopu poskusa z biofumigacijo smo preučevali delovanje križnic oziroma njenih razgradnih produktov na številčnost in posredno škodljivost strun v tleh. V letu 2012 smo v prvi dekadi marca in tik pred zaoranjem rastlinske mase križnic nabrali vzorce. Analiza je temeljila na vzorčenju 7 različnih glukozinolatov. Po količini zaznavnosti izstopajo trije (glukoiberin, glukotropin in glukonasturtin). Ugotovili smo, da se vsebnost glukoiberina razlikuje med vrstami križnic. Signifikatno najvišja vrednost glukoiberina je bila ugotovljena v vzorcih bele gorjušice ($5,54 \pm 0,01 \mu\text{mol/g ds}$), medtem ko smo najnižje vrednosti omenjenega glukozinolata potrdili v vzorcih krmne repice ($0,82 \pm 0,01 \mu\text{mol/g ds}$) (slika 1). Ugotavljamo, da vsebnost glukonasturtina ni pogojena s specifično rastlinsko vrsto ($P = 0,8258$). V začetku je bila vsebnost omenjenega glukozinolata v vzorcih bele gorjušice $0,62 \pm 0,22 \mu\text{mol/g}$, v vzorcih krmne repice pa smo ugotovili $1,13 \pm 0,55 \mu\text{mol/g ds}$ iste snovi. Tudi koncentracija glukobrasicina se je razlikovala med vrstami križnic, in sicer je variirala med $0,25 \pm 0,01 \mu\text{mol/g ds}$ pri beli gorjušici do $0,45 \pm 0,00 \mu\text{mol/g ds}$ pri krmnem ohrovtu (slika 1).

298



Slika 1: Povprečna vrednost posameznih glukozinolatov v preučevanih križnicah ($\mu\text{mol/g ss}$). Vrednosti z enakimi črkami se statistično značilno med seboj ne razlikujejo ($P \leq 0,05$; Student-Newman-Keulsov preizkus mnogoterih primerjav).

3.2 Pridelek krompirja: generalna analiza

Analiza variance je pokazala, da je tako v letu 2011 ($F = 4,46$; $df = 4, 29$; $P = 0,0346$) kot tudi v letu 2012 ($F = 2,77$; $df = 6, 83$; $P = 0,0178$) pridelek krompirja bil pogojen z načinom varstva. V letu 2011 je bil najvišji pridelek ugotovljen pri obravnavanju bela gorjušica ($30,1 \pm 0,8 \text{ t ha}^{-1}$), medtem ko smo v letu 2012 najvišji pridelek ugotovili pri obravnavanju oljna redkev ($53,8 \pm 1,6 \text{ t ha}^{-1}$) (sliki 2 in 3). Signifikatno najnižji pridelek gomoljev krompirja je bil v letu 2011 ugotovljen pri obravnavanju krmna repica ($24,5 \pm 3,2 \text{ t ha}^{-1}$), medtem ko smo do podobnih ugotovitev v letu 2012 prišli pri obravnavanju krmna ogrščica ($46,7 \pm 2,7 \text{ t ha}^{-1}$).

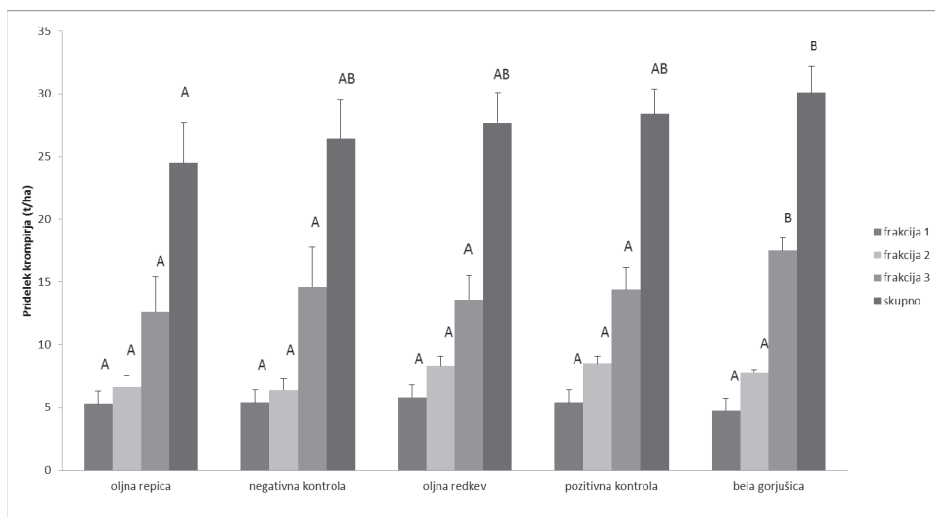
(sliki 2 in 3). Rezultati naše raziskave so pokazali, da smo v letu 2011 s sorto Avalon dosegli manj pridelka ($27,4 \text{ t ha}^{-1}$) kot v letu 2012 s sorto Stirling ($51,4 \text{ t ha}^{-1}$).

3.3 Priderek krompirja: analiza po velikostnih razredih gomoljev

Med posameznimi obravnavami smo v frakciji 1 ugotovili statistično značilne razlike le v letu 2011 ($F = 5,56$; $df = 4, 29$; $P = 0,0193$). V povprečju smo na obravnavanje v letu 2011 pridelali $5,55 \pm 0,28 \text{ t ha}^{-1}$ krompirja, medtem ko je bil pridelek v frakciji 1 v letu 2012 znatno nižji ($0,98 \pm 0,11 \text{ t ha}^{-1}$). V letu 2011 smo najmanjši pridelek gomoljev krompirja (frakcija 1) ugotovili pri obravnavanju bela gorjušica ($4,75 \pm 0,6 \text{ t ha}^{-1}$), medtem, ko smo največji pridelek ugotovili pri obravnavanju oljna redkev ($5,82 \pm 0,7 \text{ t ha}^{-1}$). Med ostalimi obravnavami v letu 2011 nismo ugotovili statistično značilnih razlik (slika 2).

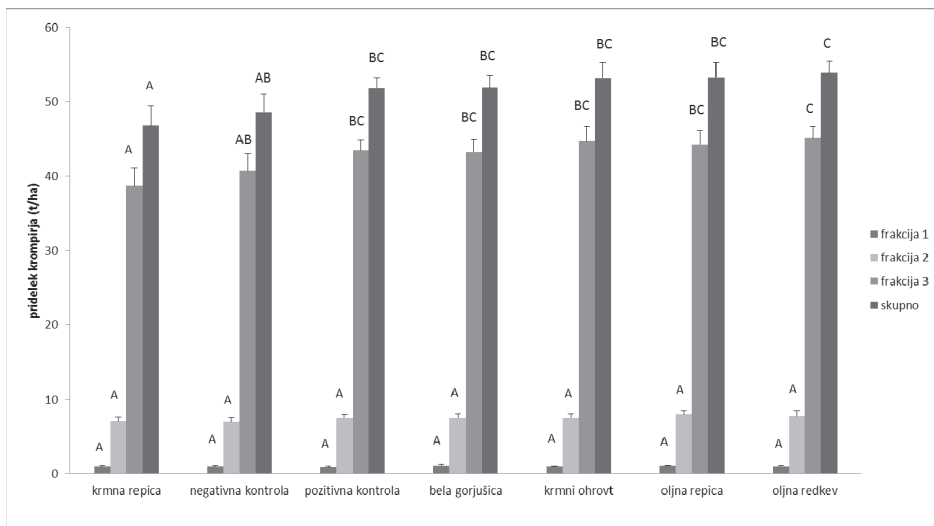
Med posameznimi obravnavami smo v frakciji 2 ugotovili statistično značilne razlike le v letu 2011 ($F = 5,72$; $df = 4, 29$; $P = 0,0178$). V povprečju smo na obravnavanje v letu 2011 pridelali $7,51 \pm 0,45 \text{ t ha}^{-1}$ krompirja, medtem, ko smo ga v letu 2012 pridelali $7,46 \pm 0,33 \text{ t ha}^{-1}$. V letu 2011 smo najmanjši pridelek gomoljev krompirja (frakcija 2) ugotovili pri obravnavanju negativna kontrola ($6,36 \pm 0,9 \text{ t ha}^{-1}$), medtem, ko smo največji pridelek ugotovili pri obravnavanju pozitivna kontrola ($8,51 \pm 0,6 \text{ t ha}^{-1}$). Med ostalimi obravnavami v letu 2011 nismo ugotovili statistično značilnih razlik (slika 2).

299



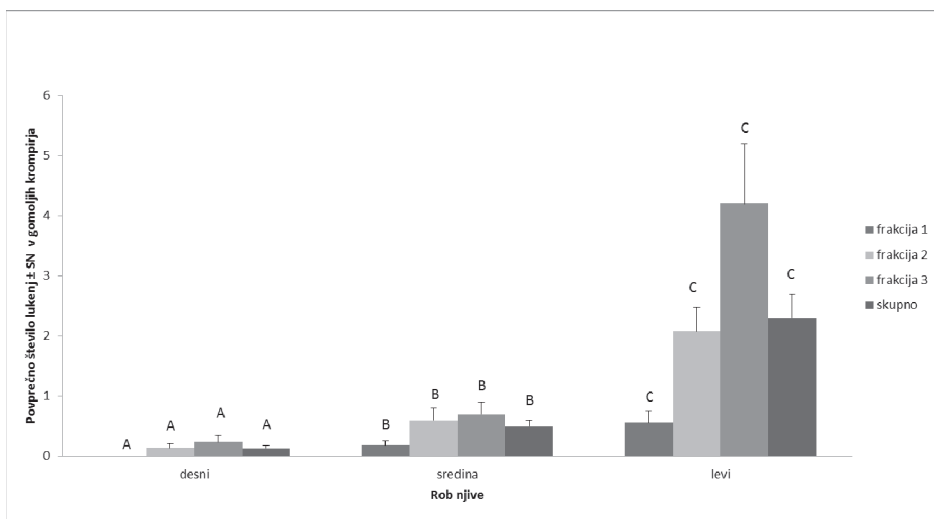
Slika 2: Priderek gomoljev krompirja po različnih velikostnih frakcijah v letu 2011 (t ha^{-1}). Vrednosti z enakimi črkami se statistično značilno med seboj ne razlikujejo ($P \leq 0,05$; Student-Newman-Keulsov preizkus mnogoterih primerjav).

Med posameznimi obravnavami smo v frakciji 3 ugotovili statistično značilne razlike tako v letu 2011, kot tudi v letu 2012 (2011: $F = 4,03$; $df = 4, 29$; $P = 0,0445$; 2012: $F = 2,94$; $df = 6, 83$; $P = 0,0195$). V povprečju smo na obravnavanje v letu 2011 pridelali $14,55 \pm 1,30 \text{ t ha}^{-1}$ krompirja, medtem, ko smo ga v letu 2012 pridelali $42,90 \pm 0,83 \text{ t ha}^{-1}$. V letu 2011 smo najmanjši pridelek gomoljev krompirja (frakcija 3) ugotovili v obravnavanju krmna repica ($12,57 \pm 2,8 \text{ t ha}^{-1}$), medtem, ko smo največji pridelek ugotovili pri obravnavanju bela gorjušica ($17,57 \pm 0,9 \text{ t ha}^{-1}$) (slika 2).



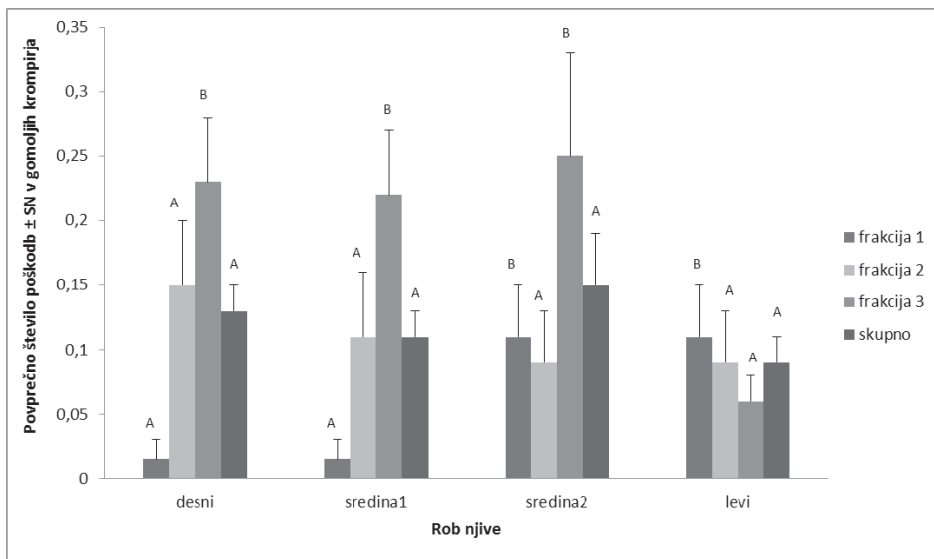
Slika 3: Pridelek gomoljev krompirja po različnih velikostnih frakcijah v letu 2012 (t ha⁻¹). Vrednosti z enakimi črkami se statistično značilno med seboj ne razlikujejo ($P \leq 0,05$; Student-Newman-Keulsov preizkus mnogoterih primerjav).

300



Slika 4: Povprečno število lukenj 1. SN v gomoljih krompirja v odvisnosti od roba njive v letu 2011. Vrednosti z enakimi črkami se statistično značilno med seboj ne razlikujejo ($P \leq 0,05$; Student-Newman-Keulsov preizkus mnogoterih primerjav).

V letu 2012 smo najmanjši pridelek gomoljev krompirja (frakcija 3) ugotovili pri obravnavanju krmna ogrščica ($38,74 \pm 2,34$ t ha⁻¹), medtem, ko smo največji pridelek ugotovili pri obravnavanju oljna redkev ($45,16 \pm 1,5$ t ha⁻¹) (slika 3).



Slika 5: Povprečno število lukenj v gomoljih krompirja v odvisnosti od roba njive v letu 2012. Vrednosti z enakimi črkami se statistično značilno med seboj ne razlikujejo ($P \leq 0,05$; Student-Newman-Keulsov preizkus mnogoterih primerjav).

301

3.4 Poškodovanost gomoljev krompirja

Analiza variance je pokazala, da sta na poškodovanost gomoljev krompirja v letu 2011 vplivala dva faktorja; varstvena metoda ($F = 3,61$; $df = 4, 149$; $P = 0,0080$) in robni efekt njive ($F = 59,57$; $df = 2, 149$; $P < 0,0001$). V letu 2012 nismo ugotovili statistično značilnega vpliva omenjenih dejavnikov na poškodovanost gomoljev krompirja.

V letu 2011 smo statistično značilno najmanj poškodb (število lukenj) na gomoljih krompirja ugotovili pri obravnavanju pozitivna kontrola ($1,16 \pm 0,3$), medtem ko je bilo največ poškodb vidnih pri obravnavanju bela gorjušica ($4,1 \pm 1,1$). Vpliv roba njive je v letu 2011 statistično značilno vplival na delež poškodb na gomoljih krompirja, in sicer se je poškodovanost zmanjševala od levega roba njive, ki je mejil na travnik ($6,8 \pm 0,9$) prek sredine njive ($1,46 \pm 0,2$) do desnega roba njive, ki je v nadaljevanju mejil na njivo s pšenico ($0,38 \pm 0,1$) (slika 4).

4 RAZPRAVA IN SKLEPI

Rezultati naše raziskave so pokazali, da je bil tako v letu 2011 kot tudi v letu 2012 pridelek gomoljev krompirja odvisen od načina varstvene metode, vendar se nobena od preizkušenih biofumigantnih rastlin ni izkazala kot zadostno učinkovita pri zmanjšanju škodljivega delovanja strun. V sorodni raziskavi Furlan s sod. (2010) poročajo, da je uporaba svežega rastlinskega materiala manj učinkovita kot uporaba t.i. biofumigantne moke, kjer je sproščanje glukozinolatov bolj konstantno.

Furlan s sod. (2010) poroča, da igra pomembno vlogo tudi večja zastopanost strun v višjih plasteh tal, saj sproščanje biofumigantnih snovi poteka zgolj v tem območju. Ker se strune v rastni dobi premikajo tudi v globlje plasti tal bi bilo smotno izvesti biofumigacijo v času, ko je iz jajčec razvijajo ličinke prvega stadija, ki se navadno nahajajo v vrhnjih plasteh tal (Vig *et al.*, 2009).

Rezultati naše raziskave so pokazali, da je bilo največ poškodb ugotovljenih na največjih gomoljih krompirja. Do podobnih ugotovitev sta prišla tudi Kuhar in Alvarez (2008), ki sta zaključila, da je poškodovanost gomoljev krompirja pogojena s časom, v katerem se gomolj nahaja v tleh. Ker se velikost gomoljev krompirja za največ poveča proti koncu rastne dobe (Horton, 2006), gomolji v tem obdobju predstavljajo alternativni vir vode in hrane strunam v tleh, kar lahko privede do povečanega števila poškodb.

Robni efekt njive je igral v našem poskusu pomembno vlogo v letu 2011. Rezultati naše raziskave so pokazali, da je bilo največ poškodb na robu njive, ki je mejil na travnik, kjer je zastopanost strun v tleh navadno največja (Parker in Howard, 2001). V primerjavi z osrednjim delom njive, je bila stopnja poškodovanosti gomoljev krompirja na omenjenem robu tudi do 17-krat večja, kar nakazuje možno uporabo tako kemičnih kot tudi biotičnih pripravkov za zatiranje strun le na robnih območjih. Omenjeni način aplikacije bi imel pozitivne učinke tako iz gospodarskega kot okoljskega vidika.

5 ZAHVALA

Rezultati, predstavljeni v tem prispevku, so bili pridobljeni z raziskovalnim delom na projektu CRP V4-1067, ki sta ga sofinancirala Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije in Ministrstvo za kmetijstvo in okolje.

6 LITERATURA

- Furlan, L., Bonetto, C., Finotto, A., Lazzeri, L., Malaguti, L., Patalano, G., Parker, W. 2010 The efficacy of biofumigant meals and plants to control wireworm population. *Industrial Crops and Products* 31: 245-254.
- Horton, D.R. 2006. Quantitative relationship between potato tuber damage and counts of Pacific coast wireworm (Coleoptera: Elateridae) in baits: seasonal effects. *J. Entomol. Soc. Brit. Columbia* 103: 37-48.
- Jansson, R.K., Lecrone, S.H. 1991. Effects of summer cover crop management on wireworm (Coleoptera: Elateridae) abundance and damage to potato. *J. Econ. Entomol.* 84: 581-586.
- Kuhar, T.P., Alvarez, J.M. 2008. Timing of injury and efficacy of soil-applied insecticides against wireworms on potato in Virginia. *Crop Protection* 27: 792-798.
- Laznik, Ž., Tóth, T., Lakatos, T., Vidrih, M., Trdan, S. 2010. Control of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) on potato under field conditions: a comparison of the efficacy of foliar application of two strains of *Steinernema feltiae* (Filipjev) and spraying with thiametoxam. *J. Plant Dis. Prot.* 117: 129-135.
- Parker, W.E., Howard, J.J. 2001. The biology and management of wireworms (*Agriotes* spp.) on potato with particular reference to the UK. *Agric. For. Entomol.* 3: 85-98.
- Vig, A.P., Rampal, G., Singh-Thind, T., Arora, S. 2009. Bio-protective effects of glucosinolates – A review. *Food Science and Technology* 42: 1561-1572.

HROŠČI IZ DRUŽIN PAHLJAČNIKOV (Scarabaeidae) IN LEPENJCEV (Chrysomelidae) – VSE POMEMBNEJŠI ŠKODLJIVCI TRAVINJA NA OBMOČJU SAVINJSKE IN KOROŠKE STATISTIČNE REGIJE

Iris ŠKERBOT¹, Matej VIDRIH², Stanislav TRDAN³

¹ KGZS - Zavod Celje, Celje

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

IZVLEČEK

Na različnih območjih v Sloveniji smo v zadnjih letih pogosto zabeležili škodo na travnikih in njivah, povzročeno od ogrcev poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.). Tudi pridelovalci na območju Savinjske in Koroške statistične regije vedno pogosteje opozarjajo na škodo na travinju, povezano z delovanjem ogrcev. V posameznih letih beležimo poškodbe nadzemskih delov rastlin v travni ruši konec aprila oziroma v začetku maja. Poškodbe koreninskega sistema travne ruše smo v letih 2011 in 2012 opazili v času od konca avgusta do konca oktobra. V prispevku predstavljamo hrošča *Galeruca tanaceti* (L.) iz družine lepenjcev (Chrysomelidae) in vrtnega hrošča (*Phyllopertha horticola* [L.]) iz družine pahljačnikov (Scarabaeidae), ki postajata vse pomembnejša škodljivca travinja na širšem celjskem območju. V prispevku so predstavljeni tudi rezultati naših spremljanj na terenu in rezultati identifikacije ličink hroščev na nekaterih lokacijah.

303

Ključne besede: travniki, poljski majski hrošč, *Melolontha melolontha*, vrtni hrošč, *Phyllopertha horticola*, *Galeruca tanaceti*, pahljačniki, Scarabaeidae, lepenjci, Chrysomelidae, poškodbe

ABSTRACT

THE BEETLES OF THE FAMILIES SCARABAEIDAE AND CHRYSOMELIDAE – IMPORTANT PESTS IN GRASSLAND IN SAVINJSKA AND KOROŠKA STATISTICAL REGION

In the last years on different regions in Slovenia we often established the damage on grasslands and fields that was caused by larvae of the common cockchafer (*Melolontha melolontha* L.). The farmers in the statistical region of Savinjska and Koroška are warning about the damage connected with activity of grubs on grasslands. The damage on overhead plant parts in the grass were noted in the end of April or in the beginning of May. The damage of grass root system were in the years 2011 and 2012 noted in the end of August to the end of October. The beetle *Galeruca tanaceti* (L.) from the family Chrysomelidae and garden chafer (*Phyllopertha horticola* [L.]) from the family Scarabaeidae which are more and more important pests on grassland on the statistical region of Savinjska and Koroška are presented in the present article. The results of our observations on the field and identification results of the larvae from some locations are also presented in the paper.

Key words: grassland, cockchafer, *Melolontha melolontha*, garden chafer, *Phyllopertha horticola*, *Galeruca tanaceti*, Scarabaeidae, Chrysomelidae, damage

¹ univ. dipl. inž. agr., CE, Trnoveljska cesta 1, SI-3300 Celje

² doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

³ prof. dr., prav tam

1 UVOD

Na območju Savinjske in Koroške statistične regije so zaradi naravnih danosti mnoge kmetije usmerjene v živinorejsko proizvodnjo (prevladuje govedoreja). Temu ustrezno je prilagojena pridelava na njivah, saj na njih pridelovalci pridelujejo pretežno krmne rastline. Velik del kmetijskih zemljišč na območju je v rabi kot trajno travinje ali pašniki. Stanje na območju potrjujejo tudi podatki Statističnega urada Republike Slovenije.

Po podatkih Statističnega urada RS je bilo v letu 2010 v Sloveniji od skupno 507.091 ha kmetijskih zemljišč kar 277.492 ha ali 54,7 % površin trajnih travnikov in pašnikov. Na območju Savinjske statistične regije je bilo v letu 2010 od 68.545 ha kmetijskih zemljišč kar 49.461 ha (72,2 %) v rabi kot trajni travnik ali pašnik. Na območju Koroške statistične regije pa je bilo v letu 2010 od 22.069 ha kmetijskih zemljišč kar 17.321 ha (78,5 %) v rabi kot trajni travnik ali pašnik.

Podatki opozarjajo na velik pomen pridelave krme na trajnih travnikih in pašnikih na obravnavanem območju ter s tem povezano odvisnost glavne panoge – govedoreje. V zadnjih letih so pridelovalci, poleg težav na travinju povzročenih zaradi suše in vročine, vedno pogosteje začeli opozarjati na težave zaradi delovanja različnih škodljivcev in posledično prizadetos travne ruše. Na poškodbe nadzemskih delov rastlin v travni ruši so v letih 2006 in 2012 opozorili že v aprilu oziroma v začetku maja, na poškodbe koreninskega sistema travne ruše pa so v letih 2011 in 2012 opozarjali predvsem v času od konca avgusta do konca oktobra. V iskanju rešitev za nastale težave smo se podrobneje lotili spremljanj na terenu in identifikacije ličink hroščev na nekaterih najbolj prizadetih lokacijah. Opazovanja in spremljanja na terenu so nas opozorila na hrošča *Galeruca tanacetii* (L.) iz družine lepenjcev (Chrysomelidae) in vrtnega hrošča (*Phyllopertha horticola* [L.]) iz družine pahljačnikov (Scarabaeidae).

2 OPIS IN BIONOMIJA HROŠČA *Galeruca tanacetii* (L.)

Galeruca tanacetii je hrošč iz družine lepenjcev (Coleoptera: Chrysomelidae). Hrošče v naravi hitro prepoznamo. Dolgi so od 6 do 12 mm in svetleče črni. Na glavi, oprsju in zadku opazimo značilne vdolbine (grobo in gosto punktirane). Zlasti pri samicah zadek navadno moli izpod pokrovk. Odrasli osebki imajo relativno majhne izbočene oči. Tipalke na glavi so nameščene tesneje skupaj, kot je dolžina bazalnega dela tipalk. Značilno zanje je, da sta prvi in tretji člen tipalk daljša kot drugi člen. Noge so črne in relativno dolge ter vitke. Na nogah so na notranji strani opazni dolgi krempljčki. Samice po oploditvi v času od septembra do oktobra odlagajo jajčeca v skupinah (okoli 60 v skupini) in jih pokrijejo s temnim in trdim izločkom eksokrinih žlez. V času odlaganja jajčec je ta izloček svetlo rumen in tekoč, nato pa otrdi in potemni. Samice pritrldijo jajčeca na stebela rastlin in v tem stadiju hrošč tudi prezimi. V odvisnosti od vremenskih razmer se prihodnje leto od sredine aprila in v maju izlegajo ličinke, ki končno velikost navadno dosežejo v prvi polovici junija. Konec maja in v začetku junija se ličinke zabubijo, iz bub pa se razvijejo odrasli hrošči, ki jih na gostiteljskih rastlinah opažamo od junija naprej, pogosto še do konca oktobra. Znano je, da odrasli hrošči poletje otrpli preživijo v šopih trave, lahko pa jih v skupinah opazimo tudi v votlih hloodih in pod kamni; navadno postanejo aktivni ob večerih, ko se temperature nekoliko znižajo. Škodljivec ima enoletni razvojni krog.

Odrasli osebki in ličinke so polifagi, ki objedajo rastline iz družin nebinovk (Asteraceae), križnic (Brassicaceae), klinčnic (Caryophyllaceae), ščetičevk (Dipsacaceae), lilijevk (Liliaceae), dresnovk (Polygonaceae) in razhudnikovk (Solamaceae). Odrasli osebki v listje izjedajo luknje, ličinke pa se hranijo na vseh izpostavljenih delih rastlin (slika 1). Pogosta

gostiteljska rastlina odraslih osebkov je navadni rman (*Achillea millefolium*), ličinke pa pogosto najdemo na navadnem vratiču (*Tanacetum vulgare*) in dokaj pogosto tudi na travniški kadulji (*Salvia pratensis*). Navadno jih v manjšem številu opazimo na širšem območju, redkeje se združijo v večje skupine in povzročajo škodo. Kot življenjski prostor jim ustrezajo cestni robovi in brežine, predvsem suha rastišča.



Slika 1: Ličinke hrošča *Galeruca tanaceti* pri objedanju travne ruše (foto: Iris Škerbot)

305

3 OPIS IN BIONOMIJA VRTNEGA HROŠČA (*Phyllopertha horticola* [L.]

Vrtni hrošč (*Phyllopertha horticola*) je predstavnik družine pahljačnikov (Coleoptera: Scarabaeidae). Hrošč (slika 2) je dolg od 9 do 12 mm. Pokrovke so rjave in pokrite s temnimi finimi dlačicami. Trebušna stran telesa, glava in vratni ščit so zelenkasti in se kovinsko svetijo. Tiplanke so črne ali na bazalnih delih rjave. Spodnja stran telesa in noge so črne. Hrošči se pojavljajo v maju in juniju ter se hranijo z listjem sadnih dreves in številnih drugih rastlin. Hrošči se radi zberejo na rastlinah v manjših otokih in rastline obžrejo do golega. Samice po parjenju v juniju odložijo od 30 do 40 jajčec v talne razpoke. Iz jajčec se v štirih do šestih tednih izležejo ličinke (ogrci), ki lahko dosežejo do 30 mm. Ogrci L1 stopnje se do tri tedne zadržujejo tik pod površjem, na globini do 4 cm. Nato se še dvakrat levijo. Vse stopnje ogrcev intenzivno objedajo korenine rastlin v travni ruši. Z jesenskim zniževanjem temperature tal se ogrci pomaknejo v globino, da se zavarujejo pred zimskim mrazom. Ob spomladanskih otoplitvah se ogrci dvigujejo proti površju in se blizu površja tal tudi zabubijo. Odrasli osebki dokaj dobro letijo in lahko učinkovito migrirajo iz travnikov na listavce v bližini. Po literaturnih podatkih so ogrci tega hrošča manj škodljivi kot na primer ogrci poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.). Škodljivec ima enoletni razvojni krog. Odrasli osebki se hranijo na listih sadnega drevja in drugih rastlin, ogrci pa obzirajo korenine rastlin v travni ruši.



Slika 2: Odrasli osebki vrtnega hrošča (*Phyllopertha horticola*) pri objedanju cveta (foto: Iris Škerbot)

306

4 SPREMLJANJE ŠKODLJIVCEV NA TERENU IN DETERMINACIJA LIČINK HROŠČEV

V letu 2006 smo v okolici Štor in leta 2012 v okolici Pijovcev na podlagi opozorila prizadetih pridelovalcev pri terenskem ogledu v aprilu pregledali poškodovane nadzemske dele rastlin v travni ruši. Ob ogledu smo odvzeli vzorce ličink, ki so množično objedale nadzemske dele rastlin ter ličinke pregledali pod stereomikroskopom Nikon SMZ800. Na podlagi ogleda na terenu, pregleda in določitve škodljivih ličink ter preveritve s pomočjo literature smo v obeh primerih zaključili, da škodo na travinju povzročajo ličinke vrtnega hrošča. Konec aprila 2006 je bilo poškodovanih približno 0,40 ha zelenice v naselju v občini Štore. V sredini aprila 2012 smo prerazmnožitev vrtnega hrošča zabeležili na skupno 0,60 ha travnikov in pašnikov v naselju Pijovci. Prizadeta so bila zemljišča na treh kmetijah. Vselej smo gospodarsko škodo zabeležili ob cesti, škodljivcev pa se je od cestnega roba v približno 20 cm širokem pasu pomikal v notranjost zemljišča.

V letu 2011 so nas pridelovalci iz Koroške (dolina Tople) in iz Dobrovelj v Zgornji Savinjski dolini konec oktobra opozorili na poškodovano travno rušo na skupno 1,5 ha velikem zemljišču in na množičen pojav ogrcev v prizadeti ruši. Zaradi ohladitve so se ogrci v slabem tednu pomaknili na 20 cm in več v globino. Ob pregledu stanja na terenu smo v tleh opazili ogrce različnih razvojnih stadijev, kar se ni ujemalo s predvidevanjem, da težave povzročajo ogrci poljskega majskega hrošča. Zaradi ohladitve in letnega časa smo s spremljanji dogajanj na terenu nadaljevali spomladi leta 2012. Spomladi na zemljiščih, ki so bila v jeseni 2011 prizadeta zaradi ogrcev, nismo opazili poškodb travne ruše. V juniju smo na obeh lokacijah na cvetočih rastlinah v travni ruši zabeležili množičen pojav odraslih osebkov vrtnega hrošča. V naslednjih mesecih smo zemljišča pogosto pregledovali in spremljali stanje in že v sredini julija na obeh lokacijah v zgornjem centimetru oz. dveh našli drobne ogrce. Pregled odvzetih ogrcev pod stereomikroskopom Nikon SMZ800 ter preveritve s pomočjo literature (ključ za

določanje) je potrdil, da so v obeh primerih v tleh ogrci vrtnega hrošča. Na obeh lokacijah je bil prizadet teren težje dostopen (strmina), v bližini pa so tudi vodni viri. Nekoliko pozneje smo na obeh lokacijah opazili, da so ogrce našli tudi jazbeci.

V septembru 2012 so pridelovalci iz različnih krajev na območju Savinjske in Koroške statistične regije opozorili na težave z ogrci, zato smo v septembru 2012 na različnih lokacijah odvzeli vzorce ogrcev in jih do določitve shranili v 75 % alkoholu. V zimskih mesecih smo pod stereomikroskopom Nikon SMZ800 in z uporabo literature opravili natančno determinacijo ogrcev. Natančna določitev ogrcev v 10 pregledanih vzorcih iz območij UE Dravograd, Prevalje in Mozirje je v petih vzorcih pokazala, da so škodo na travinju povzročili ogrci vrtnega hrošča, v dveh primerih ogrci junijskega hrošča (*Amphimallon solstitialis*), v treh vzorcih pa smo potrdili tako ogrce vrtnega kot junijskega hrošča, vendar so prevladovali ogrci vrtnega hrošča, ki so bili tudi v nižji razvojni stopnji.

Glede na poznavanje terena in pogovore s pridelovalci smo skupaj s kolegi svetovalci na območju Savinjske in Koroške statistične regije zabeležili, da je bila v letu 2012 zaradi delovanja ogrcev več kot 50 % prizadeta travna ruša na skupno vsaj 26 ha trajnih travnikov in pašnikov. Največ težav smo zabeležili na območju UE Ravne na Koroškem, Žalec, Mozirje, Dravograd in Slovenske Konjice. Menimo, da v oceno niso zajeta vsa prizadeta zemljišča oziroma, da je na našem območju od ogrcev prizadetih še več zemljišč, pa pridelovalci niso bili pozorni na škodo na travinju. Na različnih prizadetih lokacijah smo s talnimi izkopi preverili tudi število ogrcev na m² in v odvisnosti od lokacije zabeležili med 150 in 500 ogrci na m².

4 SKLEPI

307

Iz spremljanj pojavljanja hrošča *Galeruca tanacetii* v obdobju od leta 2006 do 2012 lahko zaključimo, da se bomo vsakih nekaj let na terenu spopadali s prerazmnožitvijo tega škodljivca. Glede na obseg poškodovanih zemljišč v preteklosti lahko zaključimo, da bo škodljivec v omejenem obsegu povzročil lokalno škodo, ki pa ne bo imela dolgoročnih posledic. Prej, ko bomo škodljivca zaznali in ga prepoznali, prej in uspešneje ga bomo lahko skušali omejevati v širjenju.

Iz rezultatov spremljanj na terenu in poznavanja bionomije posameznih vrst hroščev iz družine pahljačnikov lahko zaključimo, da smo imeli v letih 2011 in 2012 na območju Savinjske in Koroške statistične regije na trajnih travnikih in pašnikih gospodarsko škodo povzročeno pretežno od ogrcev vrtnega hrošča, pojavljal pa se tudi junijski hrošč. Glede na težjo dostopnost prizadetega terena, da bi lahko opravili mehanično zatiranje ogrcev na prizadetih delih zemljišč, omejenost oz. nedostopnost dobro delujočih talnih insekticidov ter da gre v večini primerov za prizadeto travinje na ekoloških kmetijah, bomo v prihodnje morali več pozornosti usmeriti v iskanje in preizkušanje ustreznih biotičnih agensov (entomopatogene ogorčice, entomopatogene glive in bakterije). Za okolju prijazno in strokovno utemeljeno ukrepanje bo vsekakor potrebno natančno poznavanje bionomije posameznih vrst iz družine pahljačnikov ter hitra in natančna diagnostika. Glede na obseg prizadetih zemljišč v zadnjih letih in ponavljajoče se težave na posameznih lokacijah na obravnavanem območju ter razvojni krog vrtnega hrošča, lahko v prihodnjih letih znova pričakujemo gospodarsko škodo, ki bo počasi naraščala. V prihodnje bomo s spremljanji nadaljevali, vendar jih bomo razširili tudi na spremljanje pojava odraslih osebkov hroščev iz družine pahljačnikov. Tako pridelovalci kot tudi strokovne službe bomo s sodelovanjem morali poiskati okolju sprejemljivo in v praksi izvedljivo ter učinkovito rešitev.

5 LITERATURA

Anonimus. 2013. *Phyllopertha horticola* (Linnaeus, 1758).

- <http://www.thewcg.org.uk/scarabaeidae/0409.htm> (02. marec 2013).
- Anonimus. 2013a. *Galeruca tanacetii*. <http://www.naturespot.org.uk/species/galeruca-tanacetii>. (26. februar 2013).
- Laughlin, R. 2009. Biology and ecology of garden chafer, *Phyllopertha horticola* (L.). VIII.-Temperature and larval growth. Cambridge Journals Online – Abstract. <http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract> (03. marec 2013).
- Müller, E., Obermaier, E. 2012. Herbivore larval development at low springtime temperatures: The importance of short periods of heating in the field. *A Journal of Entomology*: 7 str.
- Raw, F. 1951. Ecology of the garden chafer, *Phyllopertha horticola*, with preliminary observations of control measures. *Bull. Amat. Research* 42:605-646.
- Roditakis, E., Roditakis, N. E. 2006. First record of *Galeruca tanacetii* in organic *Origanum vulgare* in Crete. *Phytoparasitica*, 34, 5: 486-487.
- Sket et al., 2003. Živalstvo Slovenije. Ljubljana, Tehniška založba: 664 str.
- Statistični urad Republike Slovenije. 2013. Skupna in kmetijska zemljišča kmetijskih gospodarstev po statističnih regijah, Slovenija, 2010. SI-Stat podatkovni portal.
- Škerbot et al., 2013. Težave z ogrci na območju KGZS-Zavoda CE. Poročilo za KGZS.
- Trdan, S., Vidrih, M., Rupnik, J., Bohinc, T., Laznik, Ž. 2012. Možnosti okoljsko sprejemljivega zatiranja ogrcev na travinju – izkušnja s Kočevskega. Izvlečki predavanj delavnice "Okoljsko sprejemljive in okolju prilagojene tehnologije pridelave poljščin in koriščenja travinja v Sloveniji". Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 4-5.

VPLIV VARSTVENIH UKREPOV PROTI KORUZNEMU HROŠČU (*Diabrotica virgifera virgifera* [Le Conte]) NA GRADACIJO STRUN (Elateridae) IN DRUGIH TALNIH ŠKODLJIVIH VRST V PRIDELAVI KORUZE

Andreja PETERLIN¹, Lucija LESKOVŠEK², Karmen RODIČ³, Domen BAJEC⁴

^{1,3,4} KGZS – Zavod NM, Služba za varstvo rastlin, Novo mesto

IZVLEČEK

Koruza spada v Sloveniji že vrsto let med najbolj razširjene poljščine. Pri pridelavi se poljedelci vse pogosteje srečujejo s škodo povzročeno s strani talnih škodljivcev, med katerimi je tudi koruznih hrošč (*Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte). V Sloveniji je bil njegov pojav potrjen leta 2003 v Prekmurju, na območju JV Slovenije pa smo prve osebkke ulovili leta 2007. Spremljanje pojava odraslih osebkov smo izvajali s pomočjo feromonskih vab, s tedenskimi pregledi od julija do septembra. Na podlagi dosedanjih spremljanj smo ugotovili, da se gostota populacije koruznega hrošča povečuje. V letu 2011 smo na koruziščih zaznali tudi prvo škodo. Glede na razpoložljiva sredstva za zatiranje koruznega hrošča se je posledično začela pojavljati večja škoda še s strani drugih talnih škodljivih vrst. Izstopajo strune hroščev iz skupine Elateridae, ki so na območju JV Slovenije v letu 2012 povzročale škodo v obsegu med 20 do 30%. Zabeležili smo tudi povečane pojave sovč (Noctuidae) ter švedske mušice (*Oscinella frit* Linnaeus). Vpliv na naraščanje številčnosti talnih škodljivcev vidimo v uporabi netretiranega semena. Dodatna okoliščina pri razvoju talnih škodljivih organizmov in koruze so bile tudi specifične vremenske razmere.

Gljučne besede: *Diabrotica virgifera virgifera*, koruza, koruzni hrošč, strune, tretirano seme

ABSTRACT

EFFECT OF PLANT PROTECTION MEASURES AGAINST WESTERN CORN ROOTWORM (*Diabrotica virgifera virgifera* [Le Conte]) ON WIREWORMS (Elateridae) GRADATION AND OTHER HARMFUL SOIL SPECIES IN CORN PRODUCTION

Corn has been in Slovenia for several years one of the most widespread field crops. Growers are during production frequently confronted with damage caused by soil pests, among which is also Western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte). Its presence in Slovenia was first confirmed in 2003 in Prekmurje region, and in 2007 in the area of South east Slovenia. In 2011 we have also detected the first damage. Monitoring of adult beetles was carried out by pheromone lures throughout weekly inspections in the period from July to September. Current findings indicated that density of population is increasing and in 2011 the first damage on the cornfields was noticed. According to the set of available insecticides for controlling Western corn rootworm later on also damage from other soil pests started to appear. Important are wireworms from the beetle group Elateridae, which caused in 2012 in South east region of Slovenia damage within 20 to 30%. We also recorded increased damage from noctuid moths (Noctuidae) and Frit flies (*Oscinella frit* Linnaeus). As a reason of growing abundance of soil pests we recognize the use of untreated seed material. An

¹ dipl. inž. agr. in hor., Šmihelska c. 14, 8000 Novo mesto

² dr. agr. znan., Pongrac 83, 3302 Griže

³ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, 8000 Novo mesto

⁴ univ. dipl. inž. agr., prav tam

additional factor in the development of other harmful soil species and corn were also the specific weather conditions.

Key words: corn, *Diabrotica virgifera virgifera*, treated seed, western corn rootworm, wireworms

1 UVOD

Koruzni hrošč izvira iz Srednje Amerike in ga uvrščamo med najbolj nevarne škodljivce koruze. Modic in sod. (2009) navajajo, da se odrasli hrošči na koruzi najprej hranijo s cvetnim prahom in sivko, nato z zrnjem in koruznimi laski. Velikost populacije in širjenje koruznega hrošča v posameznem letu sta v največji meri odvisna od okoljskih dejavnikov, med katerimi je poleg vremenskih razmer v ospredju intenzivnost pridelave koruze oziroma njena pogostost v kolobarju.

2 MATERIAL IN METODE

Zastopanost odraslih osebkov koruznega hrošča na njivah ter določanje številčnosti populacije smo ugotavljali s feromonskimi vabami na različnih lokacijah. Spremljanja smo izvajali od začetka junija do konca septembra. Nadzor smo opravljali enkrat tedensko. Vir podatkov o površinah zasajenih s koruzo za leto 2012 so podatki kolegov iz kmetijske svetovalne službe. Ocena napada strun je podana na podlagi pridelovalcev koruze iz območja JV Slovenije.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V grafičnem prikazu podajamo rezultate ulova koruznega hrošča na dveh različnih lokacijah na območju JV Slovenije. Spremljanje kaže, da se populacija koruznega hrošča z leti povečuje. Vzrok smo iskali v vplivu lokacije posevka in kolobarju.

Na lokaciji Straža smo spremljali ulove koruznega hrošča na isti geografski enoti rabe zemljišča (gerk) od leta 2009. Med posameznimi leti so bili premiki nadzorovane točke le na razdalji nekaj metrov. Lokacija Straža označuje obsežno območje pridelave koruze. Iz grafikonov je razvidno, da na območjih, kjer je več kot 50 % obdelovalnih površin zasejanih s koruzo in kjer hkrati poteka pridelava koruze v glavnini kot monokultura, obstaja večja možnost za razširitev in prereznožitev koruznega hrošča v krajšem časovnem obdobju.

Preglednica 1: Prikaz kolobarja za lokacijo Straža.
Table 1: Crop rotation on location Straža.

LOKACIJA/ LETO	STRAŽA				
	kolobar	izvor semena	tretiranje	ulov koruznega hrošča [št. osebkov]	strune
2009	koruza	kupljeno seme	seme	98	/
2010	koruza	kupljeno seme	seme	98	/
2011	koruza	kupljeno seme	seme	316	/
2012	koruza	kupljeno seme	ob setvi	178	enoten posevek

Na parceli, ki jo obdaja trajni travnik se izvaja dveletni kolobar. Populacija koruznega hrošča z leti počasi narašča.

Preglednica 2: Prikaz kolobarja za lokacijo Metlika.
Table 2: Crop rotation on location Metlika.

LOKACIJA/L ETO	METLIKA				
	kolobar	izvor semena	tretiranje	ulov koruznega hrošča	strune
2009	oves			/	/
2010	koruza	kupljeno seme	seme	15	/
2011	rž			/	/
2012	koruza	kupljeno seme	/	50	enoten posevek

V zadnjem letu nadzora smo opazili poškodbe povzročene tudi od drugih talnih škodljivcev. Zabeležili smo gosenice sovk, osebkje bramorja, idr...

Na podlagi zabeležene zastopanosti strun smo na območju JV Slovenije naredili okvirno oceno škode. Predstavljena je v preglednici 3.

Preglednica 3: Površine koruze za zrnje in silažo v JV Sloveniji v letu 2012, ter ocena napada strun v % za posamezno občino.

Table 3: Area of corn for grain and silage in SE Slovenia in year 2012 and assessment of wireworm damage in % for distinct municipality.

OBČINA	Podatki o površinah koruze (ar) (zbirne vloge leta 2012)		Napad strun v posevku koruze v letu 2012 (ar)		
	zrnje	silažo	do 30 %	30 – 70 %	nad 70 %
Brežice	208.626	3.163	80.000	45.000	15.000
Črnomelj	53.897	1.3099	30.000		
Semič	4.504	50			
Kostanjevica na Krki	3.453	474	10.000		
Krško	87.078	17.495			
Metlika	31.697	1.834			3.000
Mirna peč	3.256	28.966	6.000		
Novo mesto	31.110	47.052	14.000		
Sevnica	17.504	29.421	30.000		
Dolenjske toplice	3.922	4.841		500	
Straža	1.375	2.224			
Žužemberk	1.976	6.965			
Šentjernej	33.885	32.407	12.000		
Škocjan	22.988	13.899	4.800		
Šmarješke toplice	5.112	2.080	1.800		
Trebnje	7.772	87563			
Mokronog – Trebelno	422	5808	20.000		
Mirna	788	6.375			
Šentrupert	3.307	14.357			
KGZ NOVO MESTO	840.745			253.000	

4 SKLEPI

Med spremljanjem pojava koruznega hrošča smo zabeležili letna naraščanja gostote populacije. Na območju JV Slovenije smo do sedaj zabeležili le en primer škode. Da bi se izognili težavam s koruznim hroščem v posevkih koruze, je zelo pomembna vzpostavitev kolobarja. Hkrati se je na posevkih koruze zaradi uporabe netretiranega semena začela pojavljati gospodarska škoda tudi od drugih talnih škodljivih vrst, kot so strune, bramorji in sovke. Na njihovo pojavnost vplivajo tudi vremenske razmere. Na območju JV Slovenije je bila v letu 2012 škoda, ki so jo povzročile strune ocenjena na 20 do 30%.

5 LITERATURA

- Modic Š., in sod., 2009, Varstvo koruze pred koruznim hroščem (*Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte), Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 59 str.
- Bajec, D., Rodič, K., Peterlin, A. in sod., 2009-2013. Letna poročila o izvajanju nalog iz področja zdravstvenega varstva rastlin na Kmetijsko gozdarskem zavodu Novo mesto: Poročilo o opazovalno napovedovalni dejavnosti; Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto
- Škerbot I., 2011, Dobra kmetijska praksa varstva pred Koruznim hroščem (*Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte), Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije: 7 str.

INSEKTICIDNO DELOVANJE PETIH ETERIČNIH OLJ NA ODRASLE OSEBKE FIŽOLARJA (*Acanthoscelides obtectus* [Say], Coleoptera, Chrysomelidae)

Tanja BOHINC¹, Stanislav TRDAN²

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

IZVLEČEK

V laboratorijskih razmerah smo preučevali insekticidno delovanje eteričnih olj navadnega rožmarina (*Rosmarinus officinalis*), bergamota (*Citrus bergamia*), kafre (*Cinnamomum camphora*), navadnega lovorja (*Laurus nobilis*) in žajblja (*Salvia officinalis*) na odrasle osebkke fižolarja. Delovanje eteričnih olj smo preučevali pri dveh vrednostih relativne zračne vlage (55 in 75°C) in pri treh temperaturah (25, 30 in 35 °C). Smrtnost izpostavljenih odraslih osebkov fižolarja smo ugotavljali 1., 2. in 3. dan po nastavitvi. Poskus je potekal pri 4 različnih koncentracijah eteričnih olj (24,5; 98,0; 245,0 in 980,0 µl/ l zraka). Rezultati poskusa kažejo, da je eterično olje rožmarina vplivalo na najvišjo smrtnost fižolarja (79,23±0,99 %), medtem ko je bila smrtnost v obravnavanih z eteričnimi olji žajblja (71,13±1,8 %), navadnega lovorja (66,28±1,16%), kafre (46,49±1,30 %) in bergamota (35,80±1,8 %) nižja. Delovanje eteričnih olj je bilo signifikatno višje v obravnavanih, ki smo jih izpostavili višji relativni zračni vlagi (61,52±0,78 %). Pridobljeni rezultati predstavljajo osnovo za nadaljevanje preučevanja insekticidne (fumigantne) učinkovitosti eteričnega olja rožmarina v skladiščih, z namenom implementacije v okoljsko sprejemljive sisteme skladiščenja fižola in drugih poljščin.

Ključne besede: fižolar, *Acanthoscelides obtectus*, alternativne metode, eterična olja, navadni rožmarin, bergamot, kafa, navadni lovor, žajbelj, insekticidno delovanje

ABSTRACT

INSECTICIDAL EFFICACY OF FIVE ESSENTIAL OILS AGAINST BEAN WEEVIL (*Acanthoscelides obtectus*, Coleoptera, Chrysomelidae) ADULTS

Laboratory experiment was carried out to determine the insecticidal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis*), bergamot (*Citrus bergamia*), camphor tree (*Cinnamomum camphora*), bay laurel (*Laurus nobillis*) and common sage (*Salvia officinalis*) on the mortality of bean weevil adults. Properties of essential oils were tested at two different relative humidity levels (55 and 75%) and at three different temperatures (25, 30, and 35°C). Mortality was evaluated 1, 2 and 3 days after exposure. We evaluated the efficacy of essential oils at four different dose rates: 24.5, 98.0, 245.0 and 980.0 µl/l air). Generally speaking, essential oil from rosemary gave 79.23±0.99 % efficacy, meanwhile mortality in treatments treated with sage (71.13±1.80 %), bay laurel (66.28±1.16%), camphor (46.49±1.30%) and bergamot (35.80±1.8 % lower). At higher relative humidity (61.52±0.78%) essential oils were significantly more effective. Demonstrated results provide the basis for continued study of insecticidal (fumigant) efficacy (in particular) of essential oil of rosemary in warehouses, with the purpose of implemenation in environmentally acceptable storage systems of bean and other crops.

¹ dr., raziskovalka, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² prof. dr., prav tam

Key words: bean weevil, *Acanthoscelides obtectus*, alternative methods, essential oils, rosemary, bergamot, camphor tree, bay laurel, common sage, insecticidal efficacy

1 UVOD

Uspešnost varstva skladiščenega pridelka pred škodljivimi žuželkami je v preteklih desetletjih temeljila predvsem na uporabi sintetičnih insekticidov (Kim *et al.*, 2003; Rozman *et al.*, 2007). Z vse večjim zavedanjem, da imajo lahko sintetični pripravki neželen vpliv na človeka in okolje, znanje o okoljsko sprejemljivejših načinih varstva skladiščenih pridelkov pridobiva na pomenu (Fields in Korunic, 2000; Rozman *et al.*, 2007). V državah, kjer sistemi skladiščenja zrnja še ne dosegajo visokih okoljskih standardov, lahko skladiščni škodljivci povzročijo 10-40% škode (Yang *et al.*, 2010).

Skladiščeni pridelki rastlinskega in živalskega izvora predstavljajo potencialni vir hrane za več kot 600 različnih vrst hroščev, 70 vrstam metuljev in okoli 355 vrstam pršic. Omenjene škodljive vrste povzročijo zmanjšanje kakovosti in količine skladiščenega pridelka (Derbalah, 2012). Rastlinskih vrst, ki vsebujejo spojine s potencialnim insekticidnim delovanjem je več kot 2000 (Pérez *et al.*, 2010), kljub temu pa pripravki rastlinskega izvora predstavljajo le 1 % vseh insekticidov, ki jih trenutno uporabljamo v varstvu rastlin (Rozman *et al.*, 2007).

Lipofilnost eteričnih olj rastlinskega izvora omogoča, da lahko delujejo na metabolizem škodljivca, poleg tega pa vplivajo na njegove biokemične, fiziološke in vedenjske funkcije. Njihovo delovanje je lahko ovoidno, fumigantno, insekticidno (Prajapati *et al.*, 2005), prištevamo pa jim tudi repelentno delovanje (Papachristos in Stamopoulos, 2002; Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2012).

Fižolar (*Acanthoscelides obtectus*) spada med pomembne skladiščne škodljivce fižola v Sredozemlju (Milevoj, 1995; Papachristos in Stamopoulos, 2002) in Latinski Ameriki (Pérez *et al.*, 2010). S pričujočo raziskavo smo želeli preučiti učinkovitost fumigantnega delovanja petih eteričnih olj na odrasle osebkke fižolarja, ki postaja v Evropi vse pomembnejši škodljivec uskladiščenega fižola, da bi z najučinkovitejšo od omenjenih snovi nadomestili sintetična fumiganta Al-fosfid in Mg-fosfid, ki imata trenutno v Sloveniji edina registracijo za zatiranje tega škodljivca (Seznam registriranih ..., 2013), rezultati nekaterih raziskav (Ahmedani *et al.*, 2007) pa kažejo na njihovo nezadovoljivo delovanje na skladiščne škodljivce.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Rastlinski material

V poskusu smo preučevali delovanje petih eteričnih olj; navadnega rožmarina (*Rosmarinus officinalis* L., Lamiaceae), navadnega lovorja (*Laurus nobilis*, Lauraceae), bergamota (*Citrus bergamia*, Rutaceae), kafre (*Cinamomum camphora*, Lauraceae) in žajblja (*Salvia officinalis*, Lamiaceae). Uporabili smo 100% naravna eterična olja lokalnega dobavitelja (dobavitelj: ARS Trade, d.o.o). Fižol, uporabljen v poskusu (kultivar: češnjevce, poreklo: Kanada), smo kupili v lokalni trgovini in ga hranili pri sobni temperaturi. Populacijo fižolarjev, uporabljenih v poskusu, smo gojili v Laboratoriju za entomologijo Katedre za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

2.2 Laboratorijski poskus

Poskus je potekal v že omenjenem Laboratoriju za entomologijo. Preučevanje fumigantnega delovanja eteričnih olj je potekalo pri treh temperaturnih vrednostih (25, 30 in 35°C) in pri

dveh vrednosti relativne zračne vlage (55 in 75%). V poskusu smo uporabili en dan stare odrasle osebkke fižolarjev. Eterična olja smo v štirih različnih količinah (2,5; 10,0; 25,0 in 100,0 μ l) s pomočjo avtomatske pipete aplicirali v 1,5 ml mikrocentrifugirke, ki smo jih na eni strani naluknjali, da bi dosegli njihovo fumigantno delovanje in da bi preprečili morebitno fitotoksičnost olj ob stiku z zrnjem fižola. Navedene količine eteričnih so predstavljale 24,5, 98,0, 245,0 in 980 μ l eteričnega olja na liter zraka (v nadaljevanju μ l/l). Posamezno obravnavanje s pripadajočo količino eteričnega olja je predstavljalo 5 petrijevk. Obravnavanje smo ponovili trikrat. Kontrolno obravnavanje je predstavljalo identično število petrijevk, vendar brez eteričnega olja. Posamezna petrijevka (45,0 \pm 0,10 g fižola) je vsebovala 10 odraslih osebkov fižolarja, ki jim nismo določili spola in starosti. Vsako petrijevko smo ovili s parafilmom, z namenom, da bi preprečili pobeg preučevani skupini škodljivcev. Smrtnost hroščev smo ocenjevali 24, 48 in 72 h po nastavitvi poskusa.

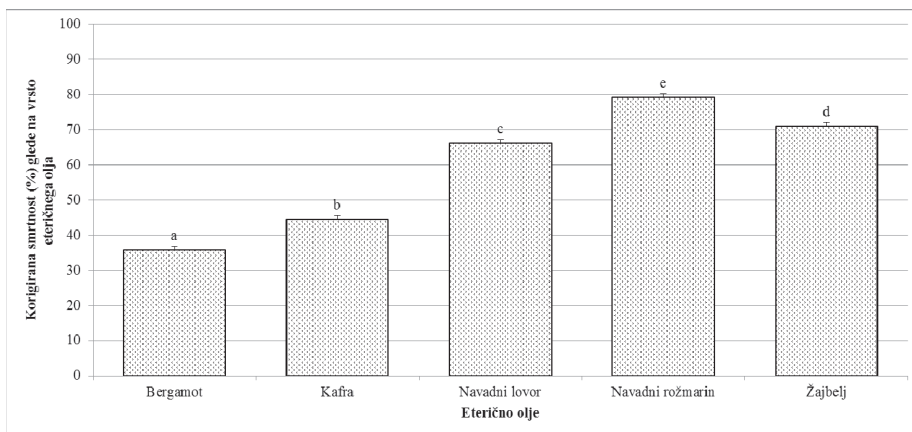
2.3 Analiza podatkov

Korigirano smrtnost smo izračunali s pomočjo Abbottove formule (Abbott, 1925). Rezultate poskusa smo statistično ovrednotili s programom Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics Centurion, 2009). Razlike med obravnavanji smo ovrednotili z analizo variance (ANOVA) in Duncanovim preizkusom mnogoterih primerjav ($P \leq 0,05$). Izračunali smo vpliv temperature, vlage, dneva ocenjevanja in količine eteričnih olj na smrtnost fižolarjev v posameznem dnevu.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

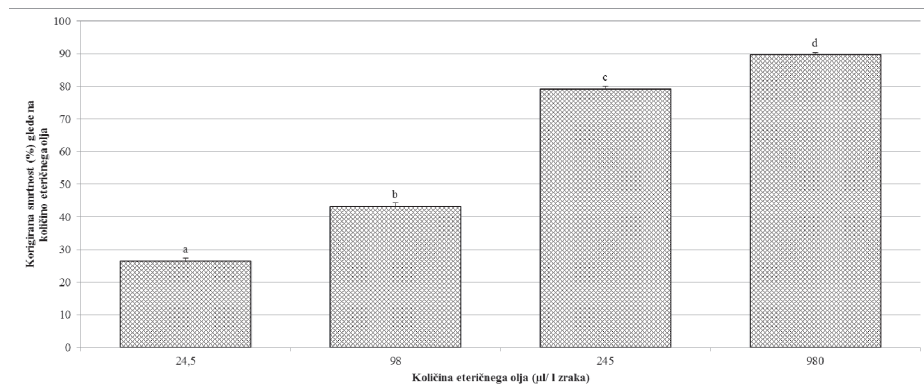
315

Ugotovili smo, da je na smrtnost odraslih osebkov fižolarja signifikantno vplivala vrsta eteričnega olja ($F=649,64$; $Df=4$; $P<0,0001$), termin ocenjevanja ($F=350,12$; $Df=2$; $P<0,0001$), količina eteričnega olja ($F=2191,69$; $Df=3$; $P<0,0001$), relativna zračna vlaga [RH] ($F=43,09$; $Df=1$; $P<0,0001$) in temperatura ($F=45,99$; $Df=2$; $P<0,0001$). Najvišjo smrtnost hroščev smo ugotovili v obravnavanjih z eteričnim oljem navadnega rožmarina (79,23 \pm 0,99 %), najnižja smrtnost pa je bila ugotovljena v obravnavanjih z eteričnim oljem bergamota (35,80 \pm 1,17%). Smrtnost hroščev pri uporabi eteričnih olj kafe (44,54 \pm 1,31%), navadnega lovorja (66,28 \pm 1,16%) in žajblja (71,13 \pm 1,08%) se je prav tako signifikantno razlikovala (slika 1).



Slika 1: Korigirana smrtnost odraslih osebkov (%) fižolarja glede na vrsto eteričnega olja
Figure 1: Corrected mortality (%) of bean weevil adults according to different essential oils

Smrtnost imagov je bila signifikatno najvišja pri 30°C (63,84±0,92%) in pri višji vrednosti relativne zračne vlage (61,51±0,78 %). Med uporabljenimi količinami eteričnih olj smo pri najmanjši dosegli 26,54±0,86 % smrtnost, pri uporabi 98 µl eteričnih olj/l zraka je bila dosežena 43,24±1,08% smrtnost, pri 245 µl eteričnega olja na liter zraka pa smo dosegli 79,27±0,86% smrtnost.

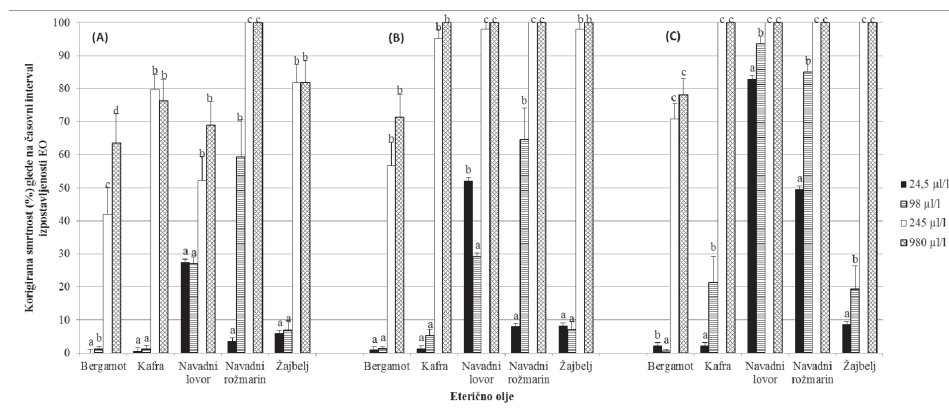


Slika 2: Korigirana smrtnost odraslih osebkov fižolarja (%) glede na količino eteričnega olja
Figure 2: Corrected mortality (%) of bean weevil adults according to different quantity of essential oils

316

3.1 Smrtnost odraslih osebkov pri 55% vlagi

Pri 25°C smo v obravnavanjih z eteričnim oljem navadnega rožmarina po 48 urah pri 24,5 µl/l zraka ugotovili 7,82±2,00 % smrtnost (slika 3), medtem ko smo v obravnavanjih z 245 µl eteričnega olja navadnega rožmarina ugotovili 100,00±0,00 % smrtnost.



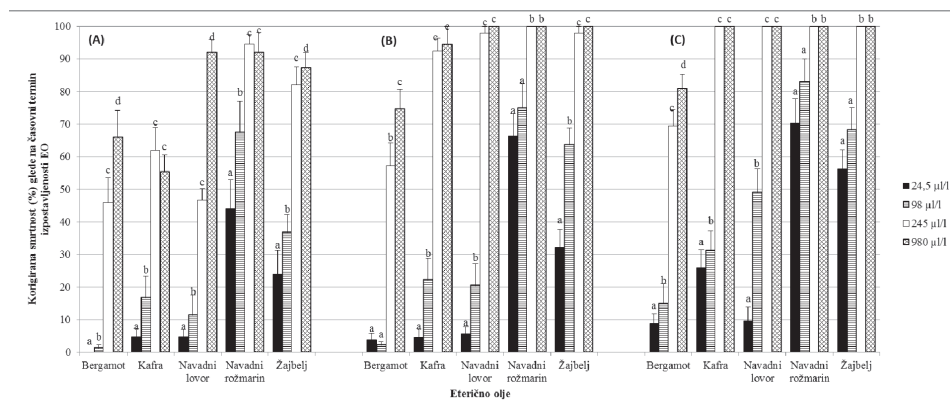
Slika 3: Korigirana smrtnost odraslih osebkov fižolarja pri 25°C in 55 % relativni zračni vlagi, glede na dolžino izpostavitve eteričnim oljem; A - 24 ur po izpostavitvi, B - 48 ur po izpostavitvi, C - 72 ur po izpostavitvi
Figure 3: Corrected mortality of bean weevil adults at 25°C and 55 % relative humidity level, according to longevity of exposure to different essential oils; A - 24 h after exposure, B - 48 h after exposure, C - 72 h after exposure

V obravnavanjih z eteričnimi olji navadnega rožmarina, navadnega lovorja, žajblja in kafe v koncentraciji 245 $\mu\text{l/l}$ zraka smo po 72 urah ugotovili 100,00 \pm 0,00 % smrtnost hroščev, medtem ko je bila smrtnost v obravnavanjih z 245 μl eteričnega olja bergamota najnižja (70,79 \pm 4,74%). Analiza delovanja EO potrjuje, da je bila 62,40 \pm 8,81 % smrtnost dosežena, če smo pri 30°C hrošče za 24 ur izpostavili EO navadnega rožmarina v količini 24,5 $\mu\text{l/l}$. 100 % smrtnost je bila dosežena, ko smo hrošče za 48 ur izpostavili 245 $\mu\text{l/l}$ EO navadnega rožmarina, medtem ko smo podobno smrtnost dosegli z izpostavljenostjo hroščev 72 ur EO navadnega lovorja. 26,93 \pm 7,49 smrtnost odraslih osebkov fižolarja je bila dosežena v obravnavanjih, ki so bila pri 35°C izpostavljena 24,5 $\mu\text{l/l}$ EO navadnega žajblja, medtem ko je omenjeno EO v količini 980 $\mu\text{l/l}$ po 48 urah povzročilo 100 % smrtnost.

3.2 Smrtnost odraslih osebkov pri 75% vlagi

V obravnavanjih, ki smo jih pri 25°C izpostavili 245 $\mu\text{l/l}$ EO navadnega rožmarina, in je bila dolžina izpostavljenosti 24 ur, smo ugotovili 94,67 \pm 2,90 % smrtnost (slika 4), medtem ko smo 48 ur po nastavitvi v omenjenih obravnavanjih ugotovili 100 % smrtnost. 100 % smrtnost po 48 urah izpostavljenosti EO smo ugotovili še v obravnavanjih z 980 $\mu\text{l/l}$ EO navadnega lovorja in žajblja. 72 ur po nastavitvi smo v obravnavanjih z EO kafe, navadnega lovorja, navadnega rožmarina in žajblja ugotovili 100 % smrtnost. Po 72 urah smo v obravnavanjih, ki smo jih pri 30°C izpostavili 245 $\mu\text{l/l}$ EO kafe, navadnega lovorja, navadnega rožmarina in žajblja ugotovili 100% smrtnost, medtem ko pri 35°C delovanje zgoraj omenjenih eteričnih olj pri 245 $\mu\text{l/l}$ ni tako izrazito.

Pri hroščih, ki smo jih pri 25°C za 24 ur izpostavili 98 $\mu\text{l/l}$ EO navadnega rožmarina smo ugotovili 67,33 \pm 9,68 % smrtnost, medtem ko smo pri hroščih, ki smo jih pri 30°C za 24 ur izpostavili EO navadnega rožmarina, ugotovili 80,41 \pm 4,36 % smrtnost.



Slika 4: Korigirana smrtnost odraslih osebkov fižolarja pri 25°C in 75 % relativni zračni vlagi, glede na dolžino izpostavljenosti eteričnim oljem; A - 24 ur po izpostavitvi, B - 48 ur po izpostavitvi, C - 72 ur po izpostavitvi
Slika 4: Corrected mortality of bean weevil adults at 25°C and 75 % relative humidity level, according to longevity of exposure to different essential oils; A - 24 h after exposure, B - 48 h after exposure, C - 72 h after exposure

4 SKLEPI

Rezultati naše raziskave predstavljajo eterična olja, še posebno navadnega rožmarina, kot učinkovito alternativno metodo zatiranja enega od pomembnejših skladiščnih škodljivcev,

fižolarja. Kljub temu, da v praksi velja, da je varstvo uskladiščenega fižola pred napadom tega škodljivca lahko uspešno tudi pri izpostavitvi nizki ali visoki temperaturi (Milevoj, 1995), pa se je tudi v drugih raziskavah uporaba rastlinskih eteričnih olj izkazala za uspešno metodo zatiranja škodljivca (Rozman *et al.*, 2007). V naši raziskavi smo dosegli 100 % smrtnost hroščev pri izpostavitvi EO navadnega rožmarina za 24 ur v količini 245 µl/l zraka. Delovanje eteričnih olj je bilo boljše pri višji relativni zračni vlagi, kar smo dokazali že v eni od prejšnjih raziskav (Trdan in Bohinc, 2012).

S tem, ko smo eterična olja dodajali v naluknjane mikrocentrifugirke, smo preprečili enega od potencialnih negativnih vplivov eteričnih olj, tj. njihovo fitotoksičnost (Cloyd *et al.*, 2009). V svetu največkrat uporabljena eterična olja - iz družin ustnatic (Lamiaceae) in lovrovk (Lauraceae) (Papachristos in Stamopoulos, 2003; Rozman *et al.*, 2007) – so se kot najbolj učinkovita pokazala tudi v naši raziskavi. Najvišjo smrtnost odraslih osebkov fižolarja smo namreč ugotovili v obravnavanjih z eteričnimi olji navadnega rožmarina, žajblja in navadnega lovorja.

Glede na podatke naše raziskave lahko sklenemo, da so eterična olja navadnega rožmarina, žajblja in navadnega lovorja najbolj učinkovita za zatiranje fižolarja v različnih razmerah. V prihodnje bi bilo smotno delovanje eteričnih olj preučiti tudi pri nižjih temperaturah, saj bi s tem pridobili informacije o njihovi širši aplikativni vrednosti. Poudariti pa želimo, da rezultati naše raziskave kažejo na to, da je uporaba pripravkov rastlinskega (naravnega) izvora lahko učinkovita alternativa kemičnim insekticidom pri zatiranju skladiščnih škodljivcev.

5 ZAHVALA

Prispevek je nastal s finančno pomočjo Ministrstva za kmetijstvo in okolje – Uprave RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin v okviru strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin. Del raziskave je bil opravljen v okviru programa Hortikultura P4-0013, ki ga financira Javna agencija RS za raziskovalno dejavnost. Za tehnično pomoč se zahvaljujemo Jaki Rupniku.

6 LITERATURA

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Ahmedani, M.S., Khaliq, A., Aslam, M., Sayyed, A.H. 2007. A new approach of split dosage for application of aluminium phosphide against the ph3 resistant psocids in stored grain. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 29,6: 538-544.
- Cloyd, R.A., Galle, C.L., Keith, S., Kalscheur, N.A., Kemp, K.E. 2009. Effect of commercially available plant-derived essential oil products on arthropod pests. *Journal of Economic Entomology*, 102, 4: 1567-1579.
- Derbalah, A.S. 2012. Efficacy of some botanical extracts against *Trogoderma granarium* in wheat grains with toxicity evaluation. *Scientific World Journal*, Doi: 10.1100/2012/639854
- Fields, P., Korunic, Z. 2000. The effect of grain moisture content and temperature on the efficacy of diatomaceous earths from different geographical locations against stored-product beetles. *Journal of Stored Products Research*, 36:1-13.
- Kim, S.I., Roh, J.Y., Kim, D.H., Lee, H.S., Ahn, Y.J. 2003. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Stored Products Research*, 39: 293-303.
- Mediouni Ben Jemâa, J., Tersim, N., Taleb Toudert, K., Larbi Khouja, M. 2012. Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research*, 48: 97-103.
- Milevoj, L. 1995. Nekateri dejavniki, ki vplivajo na naselitev fižola s fižolarjem (*Acanthoscelides obtectus* Say). V: Maček, J. (ur.). Zbornik predavanj in referatov z 2. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 21.-22. februar, 1995. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 1995: 151-161.

- Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C. 2002. Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchiade). *Journal of Stored Products Research*, 38: 365-373.
- Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C. 2003. Selection of *Acanthoscelides obtectus* (Say) for resistance to lavender essential oil vapour. *Journal of Stored Products Research*, 39: 433-441.
- Pérez, S.G., Ramos-López, M.A., Zavala-Sánchez, M.A., Cárdenas-Ortega, N.C. 2010. Activity of essential oils as a biorational alternative to control coleopteran insects in stored grains. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4, 25: 2827-2835.
- Rozman, V., Kalinovic, I., Korunic, Z. 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 43,4: 349-355.
- Seznam registriranih fitofarmaceutskih sredstev na dan 17.3.2013. Uprava RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin. Ministrstvo za kmetijstvo in okolje.
<http://spletni2.furs.gov.si/FFS/REGSR/index.htm> (17.3.2013)
- Statgraphics Centurion XVI. Statpoint Technologies, Inc. – Warrenton, Virginia, 2009
- Trdan, S., Bohinc, T. 2012. Testing the insecticidal activity of five different essential oils against bean weevil (*Acanthoscelides obtectus* [Say], Coleoptera, Chrysomelidae) adults under laboratory conditions. V: Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Weintraub, P.G. (ur.). IOBC/WPRS Bulletin, Integrated Protection of Stored Products, Volos, 4.-7. Julij 2011, Darmstadt, IOBC-WPRS, 2012: 123-131.
- Yang, F.L., Zhu, F., Lei, C.L. 2010. Garlic essential oil and its major component as fumigants for controlling *Tribolium castaneum* (Herbst) in chambers filled with stored grain. *Journal of Pest Science*, 83: 311-317.

MORFOLOŠKE KARAKTERISTIKE OGRCEV S TRAVINJA, POTREBNE ZA HITRO DETERMINACIJO

Žiga LAZNIK¹, Stanislav TRDAN²

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

IZVLEČEK

Ogrci različnih vrst pahljačnikov (Scarabaeidae) lahko na travinju ob prerazmnožitvah povzročijo gospodarsko škodo. V prispevku predstavljamo izbrane morfološke karakteristike, s katerimi lahko hitro ločimo med seboj ogrce in odrasle osebe junijskega hrošča (*Amphimallon solstitialis*), julijskega hrošča (*Anomala dubia*), vrtnega hrošča (*Phyllopertha horticola*), gozdnega majskega hrošča (*Melolontha hippocastani*) in poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*). Poseben poudarek je v prispevku namenjen tudi predstavitvi razvojnih krogov petih vrst pahljačnikov v Sloveniji.

Ključne besede: ogrci, determinacija, junijski hrošč, julijski hrošč, vrtni hrošč, gozdni majski hrošč, poljski majski hrošč, razvojni krog

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF WHITE GRUBS ON GRASSLAND, IMPORTANT FOR QUICK DETERMINATION

White grubs of different species of scarab beetles (Scarabaeidae) can, when they overmultiply, cause economical damage on grassland. In this paper we present the selected morphological characteristics, which help us in quick distinguishing of white grubs and adults of June beetle (*Amphimallon solstitialis*), margined vine chafer (*Anomala dubia*), garden chafer (*Phyllopertha horticola*), forest cockchafer (*Melolontha hippocastani*) and common cockchafer (*Melolontha melolontha*). The special emphasis in the paper is devoted to presentation of life cycles of all 5 scarab beetles recorded in Slovenia.

Key words: grubs, determination, June beetle, margined vine chafer, garden chafer, forest cockchafer, common cockchafer, life cycle

1 UVOD

Ogrci (ličinke) nekaterih vrst hroščev iz družine Scarabaeidae (pahljačniki) - poljski majski hrošč (*Melolontha melolontha* [L.]), gozdni majski hrošč (*Melolontha hippocastani* F.), junijski hrošč (*Amphimallon solstitialis* [L.]), julijski hrošč (*Anomala dubia* [Scop.]) in vrtni hrošč (*Phyllopertha horticola* [L.]) - lahko ob prerazmnožitvi predstavljajo gospodarsko pomembne škodljivce na travinju (Laznik s sod., 2012). Ličinke omenjenih hroščev se prehranjujejo s koreninami travne ruše. Neposredno škodo predstavlja zmanjšanje sposobnosti trav, metuljnic in zeli za sprejem vode in hranil ter zmanjšana stabilnost travnega pokrova. Slednje vodi na pašnikih k ogolitvam površin in zdrsnih poškodb pašnih živali. Travnna ruša ob zmanjšanju obsega koreninskega spleta rumeni in propada, njena pohodnost je zmanjšana, videz pa okrnjen. Ob prerazmnožitvah ogrcev so prizadete večje sklenjene

¹ doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² prof. dr., prav tam

površine do stopnje potrebe po celoviti obnovi. Posredna (sekundarna) škoda so raztrganine in naluknjanja travnega pokrova, povzročene s strani sesalcev (npr. divjega prašiča - *Sus scrofa*) ali ptičev, ki ličinke v travni ruši iščejo za lastno prehrano (Genov, 1981).

Na območju Gotenice smo v letih 2011-2012 izvajali poskus preučevanja učinkovitosti različnih biotičnih agensov za zatiranje ogrcev v tleh. V prispevku predstavljamo morfološko metodo za hitro ločevanje ogrcev različnih vrst pahljačnikov ali skarabejev v tleh kot tudi način ločevanja odraslih osebkov poljskega majskega hrošča in gozdnega majskega hrošča.

2 MATERIAL IN METODE DELA

Z metodo talnih izkopov (50 x 50 cm; globina jam je bila odvisna od letnega časa in se je gibala med 20 in 70 cm) smo v Gotenici med leti 2011 in 2012 določevali kritično število ogrcev v tleh. Kritično število za travno rušo znaša od 30 do 40 ogrcev L1/m², od 20 do 30 ogrcev L2/m² in od 10 do 20 ogrcev L3/m² (Huiting *et al.*, 2006).

Izkopane ogrce smo nato v Laboratoriju za entomologijo na Biotehniški fakulteti za 2 do 3 minute namočili v vrelo vodo. S tem smo uničili encime v telesu ogrcev in preprečili, da bi se le-ti temno obarvali. Prekuhane ogrce smo nato shranili v 90 % etanolu.

Morfološka identifikacijska metoda temelji na vizualnem pregledu zadnjega segmenta na abdomnu ogrcev. Ogrce smo pregledovali pod elektronskim stereomikroskopom (Nikon SMZ645), njihovo vrstno pripadnost pa smo določili s pomočjo skic, ki smo jih pridobili ob pregledu tujih literaturnih virov (Krell, 2004; Micó in Galante, 2005; Van Duinen *et al.*, 2005).

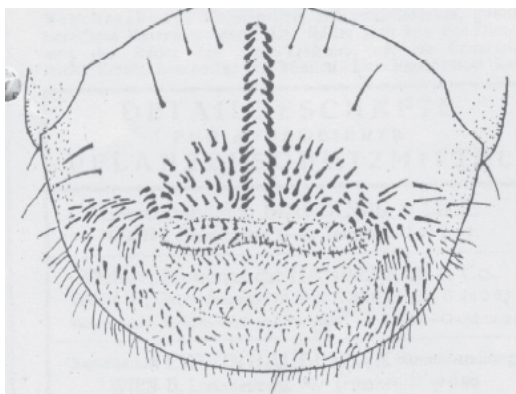
3 REZULTATI IN DISKUSIJA

321

Analiza je pokazala, da smo v tleh naravnega travnika v Gotenici našli predvsem ogrce junijskega hrošča (*A. solstitialis*), julijskega hrošča (*A. dubia*), vrtnega hrošča (*P. horticola*) in v manjšem obsegu tudi poljskega majskega hrošča (*M. melolontha*) ter gozdnega majskega hrošča (*M. hippocastani*).

3.1 Poljski majski hrošč (*Melolontha melolontha*)

Ogrc prve razvojne stopnje (L1) je velik med 10 in 20 mm.

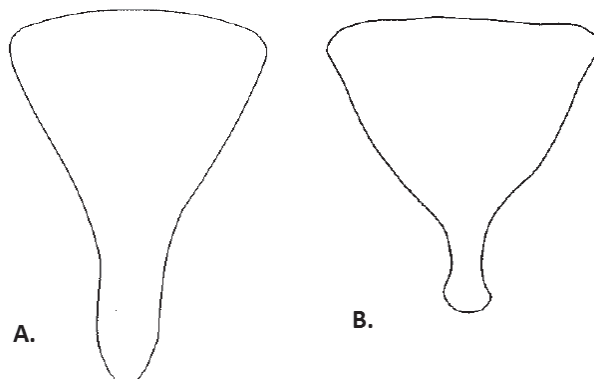


Slika 1: Shema prikazuje razporeditev dlačic na zadnjem segmentu zadka pri ogrcih poljskega majskega hrošča (*M. melolontha*).

Drugostopenjska ličinka (L2) zraste v dolžino med 30 in 35 mm, medtem ko zadnja razvojna stopnja ogrca (L3) lahko doseže velikost med 46 in 65 mm (Huiting *et al.*, 2006). Razvojno stopnjo ličink lahko določimo z izmero širine glave; L1 (od 2,1 do 3,1 mm), L2 (od 3,7 do 5,0 mm) in L3 (6,2 do 7,6 mm) (Krell, 2004). Vrsto določimo z vizualnim pregledom dlačic, ki se nahajajo na zadnjem segmentu zadka. Glavni liniji dlačic sta v obliki črke I, ob katerih so simetrično na vrhu razporejene posamezne daljše dlačice na vsaki strani. Ob spodnjem delu glavne linije dlačic se nahaja večje število krajših dlačic, ki so razporejene polkrožno (glej sliko 1).

3.2 Gozdni majski hrošč (*Melolontha hippocastani*)

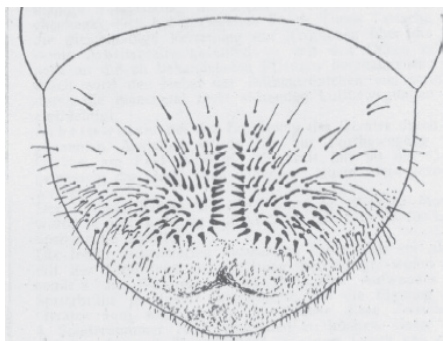
Odrasle osebkje poljskega majskega hrošča in gozdnega majskega hrošča med seboj ločimo glede na barvo ščita oprsja (*pronotum*), ki je pri poljskem majskem hrošču črn, medtem ko je pri gozdnem majskem hrošču rjav (Huiting *et al.*, 2006). Image obeh vrst med seboj ločimo tudi glede na obliko pigidija (Krell, 2004), ki je pri gozdnem majskem hrošču oblikovan v bunko, medtem ko je pigidij poljskega majskega hrošča cevast (glej sliko 2). Navadno je odrasel osebek gozdnega majskega hrošča nekoliko manjši od svojega sorodnika. Ogrci obeh vrst so si med seboj zelo podobni. Ločimo jih le glede na velikost premera glave (Krell, 2004); L1 (od 2,1 do 3,0 mm), L2 (od 3,7 do 4,8 mm), L3 (od 5,7 do 7,1 mm), ki je pri poljskem majskem hrošču nekoliko večja (glej opis v točki 3.1).



Slika 2: Pigidij poljskega majskega hrošča (*M. melolontha*) – A in gozdnega majskega hrošča (*M. hippocastani*) – B.

3.3 Junjski hrošč (*Amphimallon solstitialis*)

Ogrc prve razvojne stopnje (L1) je velik med 6 in 12 mm. Drugostopenjska ličinka (L2) zraste v dolžino med 17 in 25 mm, medtem ko zadnja razvojna stopnja ogrca (L3) lahko doseže velikost med 30 in 45 mm (Huiting *et al.*, 2006). Vrsto določimo z vizualnim pregledom dlačic, ki se nahajajo na zadnjem segmentu zadka. Glavni liniji dlačic sta v obliki črk J in L, ob katerih so simetrično razporejene številne krajše in daljše dlačice (glej sliko 3).



Slika 3: Shema prikazuje razporeditev dlačic na zadnjem segmentu zadka pri ogrcih junijskega hrošča (*A. solstitialis*).

3.4 Julijski hrošč (*Anomala dubia*)

Velikost ogrcev julijskega hrošča je primerljiva z ogrci junijskega hrošča. Razvojno stopnjo ličink lahko določimo z izmero širine glave; L1 (od 1,3 do 1,5 mm), L2 (od 3,1 do 3,3 mm) in L3 (4,5 do 4,7 mm) (Van Duinen s sod., 2005). Vrsto določimo z vizualnim pregledom dlačic, ki se nahajajo na zadnjem segmentu zadka (Micó in Galante, 2005). Glavni liniji dlačic sta v obliki črke I in se med seboj deloma prekrivata. Okoli glavne linije dlačic je razvrščenih večje število krajših sčetin v obliki trikotnika (glej sliko 4).

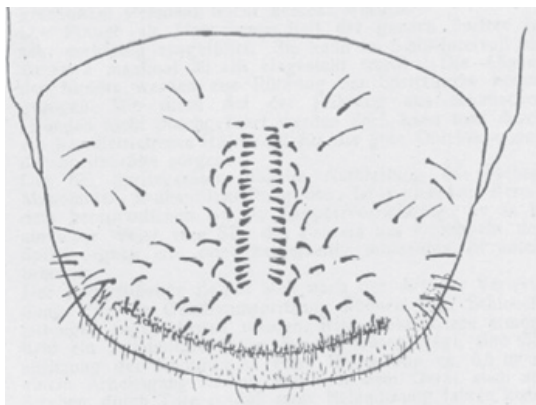
323



Slika 4: Shema prikazuje razporeditev dlačic na zadnjem segmentu zadka pri ogrcih julijskega hrošča (*A. dubia*).

3.5 Vrtni hrošč (*Phyllopertha horticola*)

Ogrci vrtnega hrošča so, v primerjavi z ostalimi omenjenimi vrstami, manjši. V prvi larvalni stopnji (L1) so veliki okoli 4 mm, v zadnji stopnji (L3) pa lahko zrastejo okoli 18 mm (Huiting *et al.*, 2006). Vrsto določimo z vizualnim pregledom dlačic, ki se nahajajo na zadnjem segmentu zadka. Glavni liniji dlačic sta v obliki črke I in se med seboj ne prekrivata. Okoli glavne linije dlačic je simetrično razporejenih manjše število svetlejših dlačic (glej sliko 5).



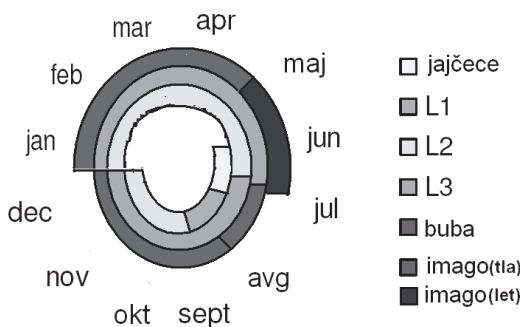
Slika 5: Shema prikazuje razporeditev dlavic na zadnjem segmentu zadka pri ogrcih vrtnega hrošča (*P. horticola*).

3.6 Razvojni krogi preučevanih vrst pahljačnikov v Sloveniji

Poljski majski hrošč ter gozdni majski hrošč imata v naših razmerah triletni razvojni krog, hrošči pa se pojavljajo vsako četrto leto (slika 6). Hrošči se pojavijo v drugi polovici aprila oz. v začetku maja. Letajo zvečer, ko se zmrača, let pa traja od dva do štiri tedne. Po parjenju samice odložijo jajčeca v tla (odlaganje jajčec poteka med junijem in julijem), iz katerih se med prvo dekada avgusta in drugo dekada septembra izležejo prvostopenjske ličinke (L1). Te se ob koncu septembra prvič levijo (L2) in v tej obliki tudi prezimijo. V drugem letu se ličinke v juniju drugič levijo (L3). V omenjeni stopnji povzročijo daleč največ škode z objedanjem koreninskega sistema različnih rastlinskih vrst. Kot tretjestopenjska ličinka prezimi v tleh in se ob koncu junija tretjega leta zabubi. V začetku septembra se iz bube razvije odrasli osebek, ki pa do maja četrtega leta ostane v tleh.

324

Poljski majski hrošč – *Melolontha melolontha*

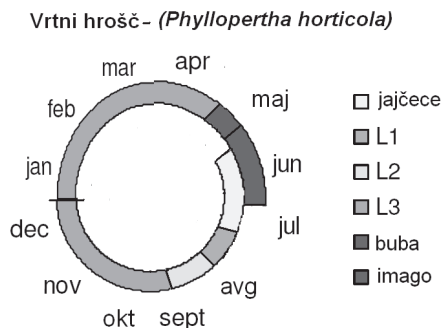


Slika 6: Razvojni krog poljskega majskega hrošča (*M. melolontha*).

Časovno pojavljanje hroščev je na območju Slovenije preučil zasl. prof. Franc Janežič (Janežič, 1958) in ugotovil, da imamo dve različni letni zaporedji pojavljanja odraslih osebkov, in sicer: III0: 2010, 2013, 2016,... in III1: 2011, 2014, 2017,... Trenutno v okviru

Tretje leto se ogrci med majem in junijem v tleh zabubijo in v juniju oz. juliju se preobrazijo v odrasle osebkke.

Vrtni hrošč ima v naših razmerah enoletni razvojni krog, hrošči pa se pojavljajo vsako drugo leto (slika 9). Med tretjo dekada maja in drugo dekada junija hrošči letajo. Samice med junijem in drugo dekada julija v tla odlagajo jajčeca, iz katerih se izležejo prvostopenjske ličinke (L1), ki se v prvi dekadi avgusta prvič levijo (L2). Druga levitev poteka v prvi dekadi septembra. Ko tretjestopenjska ličinka (L3) vrsta v tleh prezimi. V aprilu (tretja dekada) oz. maju (prva dekada) se vrsta v tleh zabubi in po 2 tednih se iz bub razvijejo odrasli osebkki.



Slika 9: Razvojni krog vrtnega hrošča (*P. horticola*).

326

4 ZAHVALA

Raziskava, predstavljena v tem prispevku, je nastala s finančno pomočjo Javne agencije za raziskovalno dejavnost RS in Ministrstva za kmetijstvo in okolje v okviru projekta CRP V4 – 1104. Za tehnično pomoč pri poskusu se zahvaljujemo tehničnemu sodelavcu Jaki Rupniku. Posebna zahvala gre tudi gospodu Marku Kocjančiču, lastniku parcele v Gotenici, kjer izvajamo poskus.

5 LITERATURA

- Genov, P. 1981. Food composition of Wild boar in north-eastern and western Poland. *Acta Theriologica* 26: 185-205.
- Huiting, H.F., Moraal, L.G., Griepink, F.C., Ester, A. 2006. Biology, control and luring of the cockchafer, *Melolontha melolontha*, current control possibilities and pheromones. Applied Plant Research Unit AGV PPO no. 32 500475 00–I.
- Janežič, F. 1958. Čas in obseg pojavljanja majskega hrošča v Sloveniji. Letno poročilo o delu, Sklad Borisa Kidriča, Biotehniška fakulteta, Ljubljana: 10 str.
- Krell, F. T. 2004. Bestimmung von Larven und Imagines der mitteleuropaischen *Melolontha*-Arten (Coleoptera: Scarabaeidae). *Laimburg J.* 1, 211-219.
- Laznik, Ž., Vidrih, M., Trdan, S. 2012. Effect of different entomopathogens against white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) in organic hay-making grassland. *Arch. Biol. Sci.* 64: 1235-1246.
- Micó, E., Galante, E. 2005. Larval morphology and biology of some European Anomalini (Coleoptera: Scarabaeoidea: Rutelidae: Anomalinae). A phylogenetical approach. *Insect Syst. Evol.* 36: 183-198.
- Van Duinen, G.-J., Beusink, P., Nijssen, M., Esselink, H. 2005. Larval development of *Anomala dubia* (Scarabaeidae) in coastal dunes: Effects of sand-spray and *Ammophila arenaria* root biomass. *Proc. Neth. Entomol. Soc. Meet.* 16: 63-70.

PREUČEVANJE KOMPATIBILNOSTI IZBRANIH INSEKTICIDOV Z ENTOMOPATOGENIMI OGORČICAMI (Nematoda: Rhabditida)

Žiga LAZNIK¹, Stanislav TRDAN²

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

IZVLEČEK

V laboratorijskem poskusu smo preučili kompatibilnost šestih ras entomopatogenih ogorčic (Rhabditida) *Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. kraussei* in *Heterorhabditis bacteriophora* z 8 izbranimi pripravki z insekticidnim delovanjem. Vpliv direktne izpostavitve infektivnih ličink insekticidom smo preverjali po 1, 6 in 24 urah v petrijevkah pri 15, 20 in 25 °C. Število preživelih infektivnih ličink je bilo po 6 urah pri 15 °C (82 %) in 20 °C (80 %) statistično značilno najvišje, medtem ko je bilo pri 25 °C (76 %) statistično značilno najnižje. Po 24 urah med 15 °C (55 %) in 20 °C (55 %) ni bilo statistično značilnih razlik, medtem ko je pri 25 °C (59 %) preživel statistično značilno največ infektivnih ličink. Izmed preučevanih insekticidov je po 6 urah statistično značilno najmanj infektivnih ličink preživel v obravnavanih Vertimec 1,8 % EC (61 %), Match 050 EC (75 %) in Delfin WG (76 %), medtem ko je bila stopnja preživetja infektivnih ličink pri ostalih obravnavanih višja od 80 %. Po 24 urah je bila smrtnost infektivnih ličink v poskusu višja. Izmed preučevanih insekticidov sta poleg kontrole (67 % živih infektivnih ličink) kompatibilnost izkazala le pripravka Neemazal T/S (68 % preživelih infektivnih ličink) in Pirimor 50 WG (63 % preživelih infektivnih ličink), medtem ko je bila stopnja preživelih infektivnih ličink pri ostalih obravnavanih nižja, najnižja pa pri pripravku Vertimec 1,8 % EC (42 %). Vrsta *S. feltiae* je bila v našem poskusu kompatibilna s pripravki Neemazal T/S, Pirimor 50 WG in Chess50 WG. Vrsta *H. bacteriophora* je bila kompatibilna z vsemi pripravki razen s pripravkoma Vertimec 1,8 % EC in Match 050 C, medtem ko vrsti *S. carpocapsae* in *S. kraussei* z nobenim od preučevanih pripravkov nista pokazali kompatibilnosti.

Ključne besede: entomopatogene ogorčice, kompatibilnost, insekticidi, *Steinernema*, *Heterorhabditis*

ABSTRACT

TESTING THE COMPATIBILITY OF DIFFERENT INSECTICIDES WITH ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES (Nematoda: Rhabditida)

In a laboratory experiment we studied the compatibility of six strains of entomopathogenic nematodes (Rhabditida) *Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. kraussei* and *Heterorhabditis bacteriophora* with 8 selected plant protection products with insecticidal activity. The influence of direct exposure of infective juveniles to insecticides was tested after 1, 6, and 24 hours in Petri dishes at 15, 20 and 25 °C. The number of survived infective juveniles was after 6 hours at 15°C (82 %) and 20 °C (80 %) statistically significant higher while at 25 °C (76%) was statistically significant lowest. After 24 hours no statistically significant differences were present between 15 °C (55 %) and 20 °C (55 %), meanwhile at 25 °C (59%) statistically significant highest number of infective juveniles survived. After 6 hours among studied insecticides statistically significant lowest number of live infective

¹ doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² prof. dr., prav tam

juveniles was found in treatments Vertimec 1,8 % EC (61 %), Match 050 EC (75 %) and Delfin WG (76 %), while the survival rate of infective juveniles in other treatments was higher than 80%. After 24 hours of a trial the mortality of infective juveniles was higher. Beside control treatment (67% survived infective juveniles) only two products, Neemazal T/S (68 % survived infective juveniles) and Pirimor 50 WG (63 %), showed compatibility. Meanwhile the survival rate of infective juveniles was in other treatments lower with the lowest one in product Vertimec 1,8 % EC (42%). *Steinernema feltiae* was in our experiment compatible with products Neemazal T/S, Pirimor 50 WG and Chess50 WG, while *H. bacteriophora* was compatible with all products except with Vertimec 1,8 % EC and Match 050 C. *Steinernema carpocapsae* and *S. kraussei* showed no compatibility with the studied insecticidal products.

Key words: entomopathogenic nematodes, compatibility, fungicides, *Steinernema*, *Heterorhabditis*

1 UVOD

Entomopatogene ogorčice (EO) veljajo za učinkovite biotične agense pri zatiranju gospodarsko pomembnih škodljivcev (Gaugler in Kaya, 1990). EO imajo dobre lastnosti za učinkovito biotično varstvo rastlin, saj nimajo negativnih vplivov na okolje, lahko jih uporabljamo na vodovarstvenih območjih, so tržno dostopne, niso fitotoksične in lahko gostitelja oslabijo ali ubijejo že v 48 urah po okužbi (Gaugler in Kaya, 1990).

EO apliciramo na območjih, ki so lahko predhodno tretirana z nekaterimi drugimi kemičnimi snovmi (fitofarmacevtska sredstva, rudninska gnojila) (De Nardo in Grewal, 2003). Nekatere predhodne raziskave so pokazale, da je učinek tovrstnih kemičnih snovi na EO specifičen. Ker za nanos ogorčic lahko uporabljamo opremo, ki je namenjena škropljenju s fitofarmacevtskimi sredstvi, gnojenju ali namakanju, je dobro vedeti ali lahko določene kemikalije mešamo z EO in ob morebitni hkratni aplikaciji teh sredstev z EO ne vplivamo na njihovo manjšo učinkovitost (De Nardo in Grewal, 2003). Hkratna aplikacija EO z FFS bi lahko tudi omogočila sočasno zatiranje različnih škodljivih organizmov na rastlinah, ob dejstvu, da bi s tem prihranili tako na času kot denarju.

V laboratorijskem poskusu smo preučili kompatibilnost šestih ras entomopatogenih ogorčic (Rhabditida) *Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. kraussei* in *Heterorhabditis bacteriophora* z 8 izbranimi insekticidi. Predvidevamo, da različne aktivne snovi (a.s.) z insekticidnim delovanjem različno vplivajo na posamezne vrste EO v suspenziji. Ob ugotovitvi morebitnih pozitivnih korelacij (to pomeni, da insekticid ne bo povzročil smrtnosti EO v suspenziji), bo mogoče takšne kombinacije insekticidov in EO uporabiti pri zatiranju izbranih škodljivih organizmov.

2 MATERIAL IN METODE DE LA

2.1 Insekticidi in entomopatogene ogorčice

V naši raziskavi smo preučili kompatibilnost 8 insekticidnih pripravkov; Chess 50 WG (a.s. pimeprozin), Confidor 200 SL (a.s. imidaklopid), Delfin WG (a.s. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*), Karate-Zeon 5 CS (a.s. lambda-cihalotrin), Match 050 EC (a.s. lufenuron), NeemAzal T/S, (a.s. azadirachtin), Pirimor 50 WG (a.s. pirimikarb) in Vertimec 1,8 % EC (a.s. abamektin). V poskus smo vključili tri slovenske (*Steinernema feltiae* B30, *S. carpocapsae* C101, *Heterorhabditis bacteriophora* D54) (Laznik *et al.*, 2009) in tri komercialne rase (a. s. *S. feltiae*; *S. carpocapsae*; *S. kraussei*; proizvajalec Becker & Underwood, VB [BU]). Vse EO smo laboratorijsko namnoževali s t.i. »*in vivo*« metodo (Bedding in Akhurst, 1975). V poskusu smo uporabili le infektivne ličinke (IL) EO, ki so bile stare manj kot 2 tedna. IL so bile shranjene v hladilniku pri 4 °C in koncentraciji 3000 IL ml⁻¹ (De Nardo in Grewal, 2003).

2.2 Test kompatibilnosti

Vodi (30 ml) smo dodali 120 % priporočene koncentracije insekticida in 6 ml suspenzije EO s koncentracijo 3000 IL/ml. S pipeto smo odpipetirali 5 ml pripravljene suspenzije in jo v petih ponovitvah nanесли na plastične petrijevke (40x10 mm; Kemomed d.o.o., Slovenija). V vsaki petrijevki je bilo 2500 IL. Vsako obravnavanje je bilo ponovljeno petkrat, celotni poskus pa je bil ponovljen trikrat. Plastične petrijevke smo dali v rastno komoro (tip: RK-900 CH, proizvajalec: Kambič Laboratorijska oprema, Semič, Slovenija) brez osvetlitve in preučevali smrtnost IL pri 15, 20, and 25 °C in 70 % relativni zračni vlagi. Preživetveno sposobnost IL smo preverjali 1, 6 in 24 ur po nastavitvi poskusa tako, da smo iz vsakega vzorca odpipetirali 3x50 µl podvzorca in s pomočjo lupe prešteli žive in mrtve IL. Kontrolni vzorec je predstavljala suspenzija IL z vodo.

2.3 Statistična analiza

Pred statistično analizo smo vse vrednosti smrtnosti korigirali z uporabo Abottove formule (Abbott, 1925). Vrednosti smo analizirali z enosmerno ANOVO s programom Statgraphics Plus for Windows 4.0 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc.), pri čemer so neodvisne sprejemljivke predstavljali različni insekticidi. Statistično značilne razlike smo določili s Tukey-evim testom ($\alpha = 0,05$).

3 REZULTATI

3.1 *Steinernema feltiae*

Domača rasa B30 je po 6 urah izpostavitve pokazala kompatibilnost z večino preizkušenih insekticidov v poskusu. Statistično značilno večjo smrtnost v primerjavi s kontrolo smo ugotovili le pri aktivni snovi abamektin (razen pri 25 °C) ter aktivni snovi lufenuron (le pri 25 °C) (preglednica 1). Analiza rezultatov je pokazala, da je bila komercialna rasa BU v poskusu manj kompatibilna z izbranimi insekticidi, saj so bile vrednosti korigirane smrtnosti višje praktično pri vseh preučevanih insekticidih. Nekatere aktivne snovi (azadirahthin, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in imidaklopid), ki so se v primeru domače rase B30 izkazale kot kompatibilne, so pri rasi BU povzročile statistično značilno višjo stopnjo smrtnosti v primerjavi s kontrolo (preglednica 2). Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi 24 ur po izpostavitvi infektivnih ličink izbranim insekticidom, kjer sta aktivni snovi azadirahthin in *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* izkazali kompatibilnost z domačo raso B30, medtem ko kompatibilnost s komercialno raso BU ni bila ugotovljena (preglednica 2).

3.2 *Steinernema carpocapsae*

Domača rasa C101 je po 6 urah izpostavitve pokazala kompatibilnost (upoštevajoč rezultate pri 15 in 20 °C) le z aktivnimi snovmi imidaklopid, pirimikarb in pimetozin, medtem ko je bila komercialna rasa kompatibilna z aktivnimi snovmi abamektin, imidaklopid in pirimikarb (preglednica 1). Analiza rezultatov je pokazala, da je bila po 24 urah domača rasa C101 kompatibilna le z aktivnima snovema, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (pri 20 in 25 °C) in pirimikarb (pri 15 in 20 °C), medtem ko je bila komercialna rasa BU kompatibilna z večino preučevanih aktivnih snovi pri najvišji temperaturi v poskusu (preglednica 2).

Preglednica 1: Vrednosti korigirane smrtnosti (%) infekciivnih ličink šestih ras EO pri mešanju z osmimi insekticidi 6 ur po izpostavitvi. Vrednosti v isti vrsti z različnimi oznakami (črkami) se statistično razlikujejo ($P < 0,05$, Tukeyev test).

EPO rasa	Temperatura	Vrednosti korigirane smrtnosti (%) EPO pri različnih insekticidnih obravnavanjih, temperaturi in 6 ur po izpostavitvi							
		Obravnavanje							
		Abamektin	Azadirahitin	<i>Bt</i> var. <i>kurstaki</i>	Imidakloprid	Lambda - cihalotrin	Lufenuron	Pirimikarb	Pimetrozin
SfB30	15 °C	54,2 b	0,0 a	7,4 a	0,0 a	0,0 a	10,5 a	0,0 a	9,2 a
	20 °C	20,8 b	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	3,0 a	0,0 a	0,0 a
	25 °C	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	31,4 b	0,0 a	0,0 a
SfBU	15 °C	86,3 g	25,0 e	25,8 e	28,3 e	10,2 c	14,5 d	4,4 b	39,1 f
	20 °C	86,5 c	1,1 a	4,6 b	7,6 b	0,0 a	0,2 a	0,0 a	0,0 a
	25 °C	90,3 d	8,3 b	30,1 c	6,4 b	0,2 a	0,0 a	1,4 a	0,0 a
ScC101	15 °C	8,0 b	32,9 c	25,1 c	0,0 a	0,0 a	0,0 a	1,2 a	0,0 a
	20 °C	0,2 a	13,1 b	12,5 b	0,5 a	15,1 b	23,6 b	0,0 a	0,0 a
	25 °C	19,5 c	58,4 f	6,5 b	42,2 e	28,3 d	54,4 f	26,5 cd	39,7 e
ScBU	15 °C	1,3 a	19,2 bc	18,3 b	14,5 b	16,5 b	22,2 bc	30,8 c	16,5 b
	20 °C	0,0 a	9,9 b	25,2 c	5,5 ab	18,3 b	8,4 b	0,0 a	10,2 b
	25 °C	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	7,4 b	0,0 a	0,0 a
SkBU	15 °C	33,6 d	13,5 b	22,2 c	2,7 a	28,5 c	49,4 f	27,4 c	43,4 e
	20 °C	25,9 d	3,6 a	0,0 a	0,0 a	14,9 b	19,9 c	13,3 b	0,0 a
	25 °C	21,4 d	0,0 a	8,4 b	18,3 cd	19,5 cd	0,0 a	8,2 b	14,6 c
HbD54	15 °C	30,3 c	0,0 a	26,9 c	14,5 b	0,5 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
	20 °C	16,7 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
	25 °C	3,4 a	19,0 b	2,4 a	0,0 a	16,1 b	0,0 a	0,0 a	13,7 b

Legenda: SfB30 – *Steinernema feltiae* strain B30; SfBU – *Steinernema feltiae* strain Becker & Underwood; ScC101 – *Steinernema carpocapsae* strain C101; ScBU – *Steinernema carpocapsae* strain Becker & Underwood; SkBU – *Steinernema kraussei* strain Becker & Underwood; HbD54 – *Heterorhabditis bacteriophora* strain D54.

Preglednica 2: Vrednosti korigirane smrtnosti (%) infektivnih ličink šestih ras EO pri mešanju z osmimi insekticidi 24 ur po izpostavitvi. Vrednosti v isti vrsti z različnimi oznakami (črkami) se statistično razlikujejo ($P < 0,05$, Tukeyev test).

EO rasa	Temperatura	Obravnavanje							Pimetrozin
		Abamektin	Azadirahthin	Bt var. <i>kurstaki</i>	Imidakloprid	Lambda - cihalotrin	Lufenuron	Pirimikarb	
SfB30	15 °C	33,6 b	0,0 a	0,0 a	19,7 ab	0,0 a	45,2 c	0,0 a	64,3 d
	20 °C	50,6 c	0,0 a	3,7 a	73,1 d	18,4 b	58,4 c	0,0 a	28,7 b
	25 °C	14,1 b	0,0 a	0,0 a	0,0 a	53,11 d	0,0 a	23,2 c	15,1 bc
SfBU	15 °C	93,8 f	45,1 d	13,8 b	62,2 e	0,0 a	0,0 a	0,0 a	30,9 c
	20 °C	99,0 e	25,0 c	23,9 c	29,3 d	14,5 b	24,1 c	15,8 b	13,5 b
	25 °C	97,4 f	20,6 d	17,2 c	30,6 e	5,1 b	0,0 a	3,1 b	0,6 a
ScC101	15 °C	55,7 d	71,8 f	65,5 e	10,1 b	44,9 d	73,1 f	2,5 a	21,2 c
	20 °C	8,6 a	0,0 a	16,6 a	0,0 a	18,8 a	47,5 b	0,0 a	0,0 a
	25 °C	30,5 b	61,8 d	0,5 a	43,8 c	27,1 b	62,9 d	27,1 b	44,1 c
ScBU	15 °C	20,4 bc	30,1 c	30,9 c	35,1 c	19,0 bc	31,2 c	39,7 c	39,4 c
	20 °C	27,5 c	40,4 d	50,1 e	10,0 b	9,4 b	31,5 c	40,4 d	28,7 c
	25 °C	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,9 a	0,0 a	6,2 ab	15,6 b	0,0 a
SkBU	15 °C	45,7 f	17,3 c	32,2 d	9,2 b	39,1 e	52,3 g	42,4 f	63,5 h
	20 °C	28,8 d	16,0 c	19,5 c	6,5 b	26,8 d	43,1 e	17,0 c	0,0 a
	25 °C	56,3 e	12,1 b	30,7 c	49,7 d	45,0 d	0,5 a	33,6 c	30,8 c
HbD54	15 °C	8,7 a	0,0 a	72,4 c	0,0 a	0,0 a	31,5 b	0,0 a	37,9 b
	20 °C	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
	25 °C	3,5 bc	0,0 a	30,3 c	22,9 c	0,0 a	17,4 c	2,4 b	8,2 b

Legenda: SfB30 – *Steinernema feltiae* strain B30; SfBU – *Steinernema feltiae* strain Becker & Underwood; ScC101 – *Steinernema carpocapsae* strain C101; ScBU – *Steinernema carpocapsae* strain Becker & Underwood; SkBU – *Steinernema kraussei* strain Becker & Underwood; HbD54 – *Heterorhabditis bacteriophora* strain D54.

3.3 *Steinernema kraussei*

Komercialna rasa BU je po 6 urah izpostavitve pokazala kompatibilnost le z aktivnimi snovmi azadirahthin in imidakloprid (20 in 25 °C) ter *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in pimetrozin (20 °C) (preglednica 1). Analiza rezultatov je pokazala, da je bila kompatibilnost po 24 urah z izbranimi aktivnimi snovmi zanemarljiva, saj sta določeno stopnjo kompatibilnosti pokazala le pripravka, katerih aktivno snov sta predstavljala lufenuron (25 °C) in pimetrozin (20 °C) (preglednica 2).

3.4 *Heterorhabditis bacteriophora*

Domorodna rasa D54 je po 6 urah izpostavitve pokazala kompatibilnost z večino preučevanih aktivnih snovi v poskusu (preglednica 1). Analiza rezultatov je pokazala visoko stopnjo kompatibilnosti tudi po 24 urah z izbranimi aktivnimi snovmi (preglednica 2).

4 RAZPRAVA IN SKLEPI

V raziskavi smo preučevali kompatibilnost entomopatogenih ogorčic z izbranimi insekticidi. Rezultati naše in nekaterih sorodnih raziskav (Krishnayya in Grewal, 2002; De Nardo in Grewal, 2003; Laznik *et al.*, 2012) so pokazali, da je kompatibilnost vrstno specifična. Azadirahthin in pirimikarb sta se v našem poskusu izkazala kot kompatibilni aktivni snovi z entomopatogenimi ogorčicami vrst *S. feltiae* ter *H. bacteriophora*, kar so ugotovili tudi v nekaterih sorodnih raziskavah (Grewal, 1998). Obe aktivni snovi sta statistično značilno vplivali na smrtnost ogorčic vrst *S. carpocapsae* in *S. kraussei* v poskusu. Laznik *et al.* (2012) poročajo, da kompatibilnost ni le vrstno, temveč tudi rasno, specifična lastnost entomopatogenih ogorčic. Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi v pričujočem poskusu. Aktivne snovi azadirahthin, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in imidakloprid so izkazale kompatibilnost z domorodno raso *S. feltiae* B30, medtem ko so omenjene aktivne snovi povzročile smrtnost komercialne rase *S. feltiae* BU. Rasne specifičnosti nismo uspeli potrditi v primeru vrste *S. carpocapsae*. Smrtnost omenjene vrste je bila potrjena pri večini insekticidnih snovi v našem poskusu, kar je v nasprotju z nekaterimi sorodnimi raziskavami, kjer so dokazali kompatibilnost vrste z aktivnimi snovmi azadirahthin, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in imidakloprid (Alumai in Grewal, 2004). Vrsta *H. bacteriophora* je v našem poskusu pokazala najmanjšo občutljivost na insekticide, medtem ko sta bili vrsti *S. carpocapsae* in *S. kraussei* najbolj občutljivi na delovanje preučevanih snovi.

Rezultati naše raziskave so pokazali, da je EO mogoče hkrati aplicirati z nekaterimi insekticidi, s čimer lahko prispevamo k učinkovitejšemu, cenejšemu in hitrejšemu zatiranju škodljivih žuželk na rastlinah.

5 ZAHVALA

Raziskava, predstavljena v tem prispevku, je nastala s finančno pomočjo Javne agencije za raziskovalno dejavnost RS in Ministrstva za kmetijstvo in okolje v okviru projekta CRP V4-1067. Del raziskave je bil financiran s strani Ministrstva za kmetijstvo in okolje – Uprave RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin v okviru strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin. Za tehnično pomoč pri poskusu se zahvaljujemo Poloni Pust, za posredovanje komercialnih ras entomopatogenih ogorčic pa Garethu Martinu iz podjetja Becker & Underwood.

6 LITERATURA

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol., 18: 265-267.

- Alumai, A., Grewal, P.S. 2004. Tankmix-compatibility of the entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*, with selected chemical pesticides used in turfgrass. *Biocontrol Sci. Technol.*, 14: 725-730.
- Bedding, R.A., Akhurst, R.J. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21: 109-110.
- De Nardo, E.A.B., Grewal, P.S. 2003. Compatibility of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) with Pesticides and Plant Growth Regulators Used in Glasshouse Plant Production. *Biocontrol Sci. Technol.*, 13, 4: 441-448.
- Gaugler, R., Kaya, H.K. 1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton, FL, CRC Press: 365 str.
- Grewal, P.S., Weber, T.A., Betterley, D.A. 1998. Compatibility of *Steinernema feltiae* with chemicals used in mushroom production. *Mushroom News*, 46: 6-10.
- Krishnayya, P.V., Grewal, P.S. 2002. Effect of Neem and Selected Fungicides on Viability and Virulence of the Entomopathogenic Nematode *Steinernema feltiae*. *Biocontrol Sci. Technol.*, 12: 259-266.
- Laznik, Ž., Tóth, T., Lakatos, T., Vidrih, M., Trdan, S. 2009. First record of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) in Slovenia. *Helminthologia* 46, 2: 135-138.
- Laznik, Ž., Vidrih, M., Trdan, S., 2012. Effect of different fungicides on viability of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* (Filipjev), *S. carpocapsae* Weiser and *Heterorhabditis downesi* Stock, Griffin & Burnell (Nematoda: Rhabditida) under laboratory conditions. *Chilean journal of agricultural research*, 72: 62-67

LABORATORY TESTING OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI FOR THE CONTROL OF WIREWORMS (*Agriotes* sp. L.)

Jaka RAZINGER¹, Matthias LUTZ², Hans-Josef SCHROERS³, Gregor UREK⁴,
Jürg GRUNDER⁵

^{1,3,4} Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana
^{2,5} Züriška univerza za aplikativne znanosti, Wädenswil, Switzerland

ABSTRACT

The aim of the study was to assess entomopathogenic potential of 7 entomopathogenic fungal species (EPF) isolated from various substrata in Slovenia against larvae of *Agriotes* sp. The fungal isolates tested were *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *M. brunneum*, *M. robertsii*, *Purpureocillium lilacinum* and *Clonostachys solani* f. *nigrovirens*. Conidia of these species were incorporated into the test substrate as a water suspension to reach a final concentration of 3.85×10^6 conidia g^{-1} air-dried soil. The larval mortality was observed on a weekly basis for a total of 90 days. Most of the mortality curves observed exhibited a linear trend with slopes ranging from 0.09 to 1.62 for the fungal treatments and 0.16 to 0.74 for the control treatment, in which only 0.1% Tween 80 solution was used. Abbott's corrected mortality at day 90 ranged from 14.3 to 100 %. The most promising candidate biological control agents were *Metarhizium brunneum* isolate 1868, *M. robertsii* isolate 1880 and *B. brongniartii* isolate 1877.

334

Keywords: biological control, biopesticides, pests, wireworms.

IZVLEČEK

LABORATORIJSKI POSKUSI Z ENTOMOPATOGENIMI GLIVAMI ZA ZATIRANJE STRUN (*Agriotes* sp. L.)

Namen raziskave je bil oceniti entomopatogenost več vrst gliv, izoliranih iz različnih substratov iz Slovenije. Preskušali smo glive *Beauveria brongniartii* (1 izolat), *B. bassiana* (1), *Metarhizium robertsii* (1), *M. anisopliae* (2), *Purpureocillium lilacinum* (1) in *Clonostachys solani* (1). V poskusih smo konidije dodajali testnemu substratu v obliki vodne suspenzije. Substrat smo temeljito premešali, da smo dosegli končno koncentracijo $3,85 \times 10^6 g^{-1}$ zračno suhega substrata. Smrtnost ličink smo opazovali tedensko v skupnem trajanju 90 dni. Krivulje smrtnosti so izkazovale linearni trend z nakloni od 0,09 do 1,62 pri glivnih tretmajih in od 0,16 do 0,74 pri kontrolah tretiranih le z 0,1% Tween 80. Smrtnost po Abbottovemu popravku je na 90. dan znašala 14,3 do 100 %. Najbolj obetavni izolati so bili *Metarhizium brunneum* izolat 1868, *M. robertsii* izolat 1880 in *B. brongniartii* izolat 1877.

Ključne besede: biotično varstvo, bioinsekticidi, škodljivci, strune

¹ dr., Campus Grueental P.O.Box 335, Wädenswil, CH-8820, Švica in Hacquetova ulica 17, Ljubljana, SI-1000, Slovenija, e-mail: jaka.razinger@kis.si

² dr., Campus Grueental P.O.Box 335, Wädenswil, CH-8820, Švica

³ dr. rer. nat., Hacquetova ulica 17, Ljubljana, SI-1000, Slovenija,

⁴ doc. dr., prav tam,

⁵ dr., Züriška univerza za aplikativne znanosti, Campus Grueental P.O.Box 335, Wädenswil, CH-8820, Švica

1 INTRODUCTION

Wireworms, soil-burrowing larval stages of click beetles (Coleoptera: Elateridae), are major pests of a wide range of crops including potato in many parts of the world (Ansari *et al.*, 2009; Furlan *et al.*, 2010). Wireworm tunnelling in potato creates an entry point for other plant pathogens, which can cause tuber rot (Ester & Huiting, 2007). In areas highly infested with wireworms, entire batches can become unmarketable (Ansari *et al.*, 2009). In Slovenia, *Agriotes ustulatus* Schall., *A. lineatus* L., *A. obscurus* L., and *A. sputator* L. live in grasslands and fields and thus have the potential to be agricultural pests (Gomboc & Milevoj, 2000). Several attempts have been made to control wireworms and other pests from the click beetle family with biological agents (Tinline & Zacharuk, 1960; Ester & Huiting, 2007; Ansari *et al.*, 2009). The experimental methodology in most of these attempts did not follow standardized protocols. Also, the mortality rates and lethal times varied considerably. Therefore, each newly discovered entomopathogenic fungi (EPF) isolate must undergo rigorous testing, in order to determine its potential as a biocontrol agent. The aim of this study was to assess the entomopathogenic potential against wireworms of several newly discovered EPF in Slovenia.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Entomopathogenic fungi (EPF) isolation and culturing

The EPF were isolated from various substrates in Slovenia. The fungal strains were routinely cultured on potato dextrose agar media at 24°C in darkness. The fungal isolates tested were *Beauveria bassiana* (strain 1174), *B. brongniartii* (1877), *Metarhizium anisopliae* (1154), *M. brunneum* (1868), *M. robertsii* (1880), *Purpureocillium lilacinum* (1797) and *Clonostachys solani* f. *nigrovirens* (1828).

2.2 *Agriotes* sp. larvae collection and maintenance

Agriotes sp. larvae were collected in maize-wheat bait traps according to the description provided by Kirfman *et al.* (1986) and Chabert and Blot (1992). The traps were placed on the 14th of April, 2012 and collected on the 28th of April, 2012. The contents were hand-sorted and all living *Agriotes* sp. larvae transferred to a 15 l plastic container, containing ca. 8 kg damp soil from the original location. The container was placed in a glasshouse on the AIS premises in Ljubljana, Slovenia. Carrot and potato slices were added regularly as food and the container was watered as needed.

2.3 Soil exposure experiment

Conidial suspensions were prepared by transferring conidia to 100 ml of sterile 0.1% Tween 80 solution. A hemocytometer was used to adjust concentrations of conidia. The final concentration of EPF conidia was $3.85 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$ substrate, which was air-dried for 48 h before the conidial suspension was added. The test substrate was a light commercial substrate, rich in organic matter. The spore infected substrate was mixed thoroughly in a large sterile plastic bag to insure homogenous conidial distribution. Thirty ml of substrate containing conidia was transferred into an individual 50 ml centrifuge tube. Into each 50 ml centrifuge tube, a single *Agriotes* sp. larva was placed. Finally, a thin slice (ca. 3 mm thick) of potato tuber was placed on top of the substrate in each tube. The tubes were loosely capped, so air could freely circulate. Fifteen test vessels were used for each treatment. 0.1% Tween was used for negative controls. The positive control was the insecticide 'Marshall' (Marshall 25 CS', based on Carbosulfan, 24.5 % active ingredient, used at a recommended concentration of 0.1 %). The larval mortality was observed on a weekly basis for a total duration of 90 days. Dead or immobile larvae lacking a coat of sporulating mycelium were

removed from the test vessels and placed in sterile 24-well plates to initiate growth of potentially present fungi. The experiment was carried out in an environmental chamber set to 20°C, 80 % relative humidity and total darkness. Potato slices and water was added to the test vessels as needed.

2.4 Data calculations and statistics

From the number of living larvae at each observation point, rate of mortality ($M = 100 \times \text{living} / \text{initial larvae}$) was calculated. Linear and nonlinear regression was performed on these data. Mortality curve slopes from linear regression were compared against control curves. Data for nonlinear regression were first log-transformed before LT_{50} values were calculated. Additionally, Abbott's corrected mortality (ACM) was calculated for the observed mortalities at day 90. ACM is calculated as follows: $ACM = 100 \times ((X - Y) / X)$, where X represents the percent of living larvae in the untreated control sample and Y the percent of living larvae in the treated sample. Calculation using this method eliminates errors due to deaths in the control samples, which were not due to the treatments with our selected EPF (Abbot, 1925). Data presented are mean values. The experiment was performed twice independently. Statistical analysis was performed by computer software GraphPad Prism 5.00 and Microsoft Excel 2007.

3 RESULTS AND DISCUSSION

The mortality curves observed in the soil experiment exhibited a linear trend when *Purpureocillium lilacinum* (1797), *Metarhizium anisopliae* (1154), *Metarhizium brunneum* (1868) and *Metarhizium robertsii* (1880) were tested (Figure 1; Table 1). The 95 % confidence intervals of the EPF treatment slopes for *M. brunneum* (1868) and *M. robertsii* (1880) differed significantly from the slope of the control samples. The second experiment gave similar results with two notable differences: higher mortality was observed in the treatment with *Metarhizium anisopliae* 1154, and lower mortality in the treatment with *Beauveria brongniartii* (1877) (not shown).

336

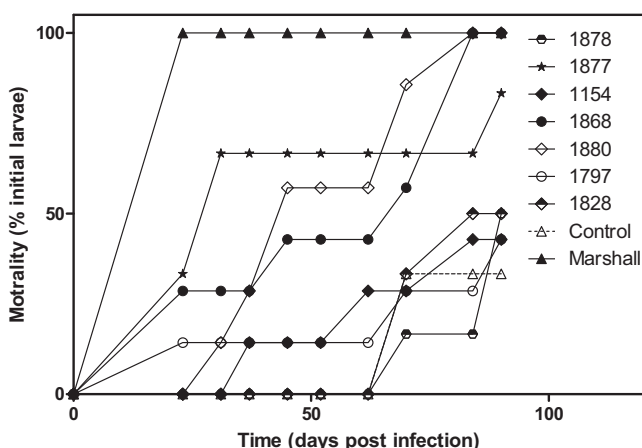


Figure 1: Mortality of *Agriotes* sp. larvae during a typical experiment. The experiments were followed for 90 days. The soil was amended with a concentration of 3.85×10^6 conidia g^{-1} air-dried soil at the start of the experiment. *Marshall* - a Carbosulfan-based insecticide, used as a positive control. For the list of EPF strains please see the Materials and Methods section.

The calculated 95 % confidence interval of time needed to reach a 50 % mortality (LT_{50}) based on nonlinear regression was lowest in the treatment with *B. brongniartii* (strain 1877) (14.9 – 43.4 days) and highest in the treatment *Purpureocillium lilacinum* (1797) (85.9 – 244 days), followed by control treatment (82.8 – 121 days). The positive control (treatment with Marshall 25 CS) reached a LT_{50} of less than one day (Table 1). The highest ACM (at day 90) was calculated for the treatment with *M. brunneum* strain 1868 and *M. robertsii* (both 100 %), followed by the treatment with *B. brongniartii* strain 1877 (75.0 %). The lowest ACM was calculated for the treatment with *M. anisopliae* 1154 and *P. lilacinum* 1797 (both 14.3 %) (Table 1).

Table 1: Statistical analysis of the mortality curves and Abbott's corrected mortalities (ACM) calculated for day 90. *Slope* - 95% confidence interval of the mortality slope obtained by linear regression; r^2 - goodness of fit of linear regression; LT_{50} - 95% confidence interval of time needed to reach a mortality of 50 % assessed by nonlinear sigmoid curve fitting; *Marshall* - a Carbosulfan-based insecticide used as a positive control.

Treatment	1878	1877	1154	1868	1880	1797	1828	Control	Marshall
Slope	0.0904- 0.742	0.272- 1.10	0.408- 0.712	0.755- 1.37	1.01- 1.62	0.221- 0.528	0.247-1.01	0.161- 0.740	0-1.42
r^2	0.520	0.646	0.900	0.888	0.925	0.799	0.644	0.617	0.383
LT_{50} [days]	87.8-92.5	14.9- 43.4	87.1- 110	40.6- 63.8	42.3- 52.2	85.9- 244	/	82.8- 121	< 1
ACM [%]	25.00	75.00	14.29	100.00	100.00	14.29	25.00	0.00	100.00

The results from the treatments with *M. brunneum* 1868, *M. robertsii* 1880 and *B. brongniartii* 1877 were comparable to the insecticidal activity of a *M. anisopliae* isolate reported by Kölliker *et al.* (2011) for *A. lineatus*. Kölliker *et al.* (2011) obtained lower LT_{50} mortality rates against *A. sputator* and higher for *A. obscurus*. They hypothesized that the pathogenicity of their isolate was species specific. Our study did not allow for differentiation of toxicity assessment against different *Agriotes* sp. species as we performed our experiments with field collected larvae and did not classify them to the species level. This could be overcome by rearing our own *Agriotes* sp. by using the protocol of Kölliker *et al.* (2009) and evaluating insecticidal activity for individual species. Despite these shortcomings the isolates *Metarhizium brunneum* 1868, *M. robertsii* 1880 and *B. brongniartii* 1877 gave promising results. After successful glasshouse and field testing, they could be considered as an environmentally friendly alternative for wireworm management in conventional or organic farming systems.

4 ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Mrs. Cilka Bertonecjl for providing the *Agriotes* sp. larvae, and Ursula Löffel and Tobias Hofmann for their laboratory assistance. The research was financed by the Rectors' Conference of Swiss Universities (SciexNMS-CH scholarship).

5 REFERENCES

- Abbott, W.S. 1925. A Method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of economic entomology*, 18: 265-267.
- Ansari, M.A., Evans, M. & Butt, T.M. 2009. Identification of pathogenic strains of entomopathogenic nematodes and fungi for wireworm control. *Crop Protection*, 28: 269–272.
- Chabert, A. & Blot, Y. 1992. Estimation des populations larvaires de taupins par un piège attractif. *Phytoma*, 436: 26- 30
- Ester, A. & Huiting, H., 2007. Controlling wireworms (*Agriotes* spp.) in a potato crop with biologicals. *IOBC wprs Bulletin*, 30 (1): 189-196.

- Furlan, L., Bonetto, C., Finotto, A., Lazzeri, L., Malaguti, L., Patalano, G. & Parker, W. 2010. The efficacy of biofumigant meals and plants to control wireworm populations. *Industrial Crops & Products*, 31: 245-254.
- Gomboc, S. & Milevoj, L., 2001. New monitoring methods of click beetles and wireworms (Coleoptera: Elateridae) in field crops. 5th Slovenian Conference on Plant Protection, Book of Abstracts: 327-336.
- Kirfman, G.W., Keaster, A.J. & Story, R.N. 1986. An improved wireworm (Coleoptera: Elateridae) sampling technique for midwest cornfields. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 59: 37-41.
- Kölliker, U., Biasio, L. & Jossi, W. 2011. Potential control of Swiss wireworms with entomopathogenic fungi. *IOBC Bulletin*, 66: 517-520.
- Kölliker, U., Jossi, W. & Kuske, S. 2009. Optimised protocol for wireworm rearing. *IOBC Bulletin*, 45, 457-460.
- Tinline, R.D. & Zacharuk, R.Y. 1960. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sor. and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. to two species of Elateridae. *Nature*, 187: 794-795.

**FIELD TESTING OF ENTOMOPATHOGENIC OR POTENTIALLY PLANT
GROWTH PROMOTING FUNGAL STRAINS FOR THE CONTROL OF CABBAGE
ROOT FLY (*Delia radicum* L.) AND THEIR RHIZOPLANE COMPETENCE**

Jaka RAZINGER¹, Matthias LUTZ², Hans-Josef SCHROERS³, Špela MODIČ⁴,
Meta ZEMLJIČ URBANČIČ⁵, Metka ŽERJAV⁶, Kristina UGRINOVIČ⁷, Mojca ŠKOF⁸,
Gregor UREK⁹, Jürg GRUNDER¹⁰

^{1,3,4,5,6,7,8,9} Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana
^{2,10} Züriška univerza za aplikativne znanosti, Wädenswil, Switzerland

ABSTRACT

The aim of this research was to assess the ability of 6 entomopathogenic or potentially plant growth promoting fungal species to protect cauliflower plants against cabbage root fly (CRF) and to test their rhizoplane competence in a field experiment. The following fungal species were tested: *Trichoderma atroviride* (1 strain), *T. koningiopsis* (1), *T. gamsii* (1), *Beauveria bassiana* (1), *Metarhizium anisopliae* (2) and *Clonostachys solani* (1). The fungi were isolated from various substrata in Slovenia. A commercial product based on *B. bassiana* (Naturalis) was used as a positive control. The field experiment mimicked semi-normal agronomic practice in cauliflower production. Amount of 2.2×10^7 were applied to individual 4 wk-old cauliflower plantlets as a drench 8 hours before they were transplanted to the field. All fungal isolates were infective to one or more CRF life stages (eggs, larvae, pupae or imago), as assessed in previous laboratory bioassays. *Clonostachys solani* and the product Naturalis increased the average plant weight at harvest. *Trichoderma atroviride* and *M. anisopliae* (1154) treated plants had the lowest mortality. The lowest number of pupae and live larvae were counted in the Naturalis treatment followed by both *M. anisopliae* treatments. The highest number of pupae and living larvae were counted in the control treatment. *Clonostachys solani* and all *Trichoderma* species were reisolated from the rhizoplane 85 days after application. The results indicate that rhizoplane competence of the tested fungal species varies considerably, potentially due to different ecological preferences of the fungal species.

Keywords: biological control, brassicas, biopesticides, Diptera, pest

IZVLEČEK

**POLJSKI PRESKUS VARSTVA CVETAČE PRED KAPUSOVO MUHO (*Delia radicum* L.)
Z ENTOMOPATOGENIMI ALI POTENCIALNO RAST SPODBUJAJOČIMI SEVI GLIV IN
DOLOČANJE NJIHOVE RIZOSFERNE KOMPETENCE**

¹ dr., Hacquetova ulica 17, Ljubljana, SI-1000, e-mail: jaka.razinger@kis.si) and Campus Gruental P.O.Box 335, Wädenswil, CH-8820, Švica

² dr., Campus Gruental P.O.Box 335, Wädenswil, CH-8820, Švica

³ dr. rer. nat., Hacquetova ulica 17, Ljubljana, SI-1000, Slovenija

⁴ mag., prav tam

⁵ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁶ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁷ dr., prav tam

⁸ univ. dipl. ing. agr., prav tam

⁹ doc. dr., prav tam

¹⁰ dr., Züriška univerza za aplikativne znanosti, Campus Gruental P.O.Box 335, Wädenswil, CH-8820, Švica

Namena raziskave sta bila a) oceniti varstvo cvetače pred kapusovo muho (KM) in b) oceniti prilagojenost 6 vrst entomopatogenih ali potencialno rast spodbujajočih gliv na rizosfero v okviru poljskega poskusa. Preskušane so bile naslednje vrste gliv: *Trichoderma atroviride* (1 izolat), *T. koningiopsis* (1), *T. gamsii* (1), *Beauveria bassiana* (1), *Metarhizium anisopliae* (2) in *Clonostachys solani* (1). Glive smo izolirali iz različnih substratov v Sloveniji. Za pozitivno kontrolo smo uporabili komercialni izdelek, ki temelji na *B. bassiana* (Naturalis). Poljski poskus je bil oskrbovan v skladu z ustaljeno agronomsko prakso iz katere je bila izvzeta varstvo rastlin s fitofarmaceutskimi sredstvi. 4 tedne stare sadike cvetače smo zalili z $2,2 \times 10^7$ konidijev 8 ur pred presajanjem na polje. Vsi izolati gliv so bili kužni za eno ali več razvojnih faz KM (jajčeca, ličinke, bube ali odrasli osebk), kar smo potrdili v predhodnih laboratorijskih poskusih. Pri tretiranjih s *C. solani* in pripravkom Naturalis je bila povprečna masa rastlin ob spravilu večja. Pri tretiranjih s *T. atroviride* in *M. anisopliae* (1154) je propadlo manj rastlin kot pri ostalih tretiranjih. Najmanj bub in živih ličink smo našli pri postopkih Naturalis in obeh izolatih *M. anisopliae*. Največje število bub in živih ličink smo našli pri kontroli. *C. solani* in vse vrste *Trichoderma* sp. smo uspeli ponovno izolirati s površine korenin po končanem poskusu. Ti rezultati kažejo, da se prilagojenost testiranih vrst gliv na rizosfero precej razlikuje, verjetno zaradi različnih ekoloških potreb posameznih vrst.

Ključne besede: biotično varstvo, bioinsekticidi, Diptera, kapusnice, škodljivci

1 INTRODUCTION

Brassicaceous plants are attacked by a wide range of pest insects (Klingen *et al.*, 2002). Specifically the cabbage root fly species *Delia radicum* and *Delia floralis* present major threats for many brassica crops in Europe (Vanninen *et al.*, 1999). No sustainable control strategies are currently available; however, several studies have indicated that larvae of *Delia* sp. can be biologically controlled using entomopathogenic fungi (Vanninen *et al.*, 1999; Klingen *et al.*, 2002; Bruck *et al.*, 2005).

Entomopathogenic fungi kill dipterous insects after they are ingested or through infection via external contact (Thomas and Read, 2007; Toledo *et al.*, 2007). Both mechanisms imply that an effective biological control agent should live in juxtaposition of either the crop or the insect pest. The goal of the presented study was to evaluate if inoculated entomopathogenic fungi were able to protect cauliflower roots under field conditions and to determine their plant compatibility.

The experiments were performed with fungi already identified as entomopathogens and with soil fungi. We hypothesized that different ecological preferences of the various isolates will have an effect in their ability to attack *D. radicum* and consequently provide various kinds of protection to the plants, qualitatively and quantitatively. We also hypothesized that various isolates differ in their root colonization ability and that they may have a different effect on plant vigor and growth. The aims of the research were to assess whether (i) the 7 entomopathogenic or potentially plant growth promoting fungi (EPF) can protect cauliflower plants against cabbage root fly (CRF) in a field experiment, (ii) the EPF are rhizoplane competent or able to persist on or in roots, and (iii) the fungal isolates have an effect on plant growth and survival.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Fungal cultures tested

The tested fungal isolates were *Metarhizium anisopliae* (isolate 1154 and 1868), *Beauveria bassiana* (1174), *Clonostachys solani* (1828), *Trichoderma atroviride* (1873), *T. koningiopsis* (1874) and *T. gamsii* (1876). The product 'Naturalis' based on the entomopathogenic fungus

Beauveria bassiana, at a recommended concentration of 0.1 %, was used as a positive control.

2.2 Protection against cabbage root fly

The field experiment mimicked semi-normal agronomic practices in cauliflower production, with phytopharmaceutical protection excluded from the usual practice. An amount of 2.2×10^7 conidia were applied to individual, 4-wk-old cauliflower plantlets as a drench 8 hours before they were transplanted to the field.

2.3 Rhizoplane competence and endophytism

The fungal isolates were further tested for their rhizoplane competence and ability to survive as endophytes in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). Rhizoplane competence, which describes the ability of a fungus to become infested on the immediate root surface, was assessed by placing root pieces, 3-times washed with sterile water, on semi selective media (Strasser and THSM media). The ability of the fungi to survive as endophytes in root tissue was assessed similarly but with an additional washing step with 70 % ethanol for XX seconds. Before they were placed on agar media, root pieces were air-dried under sterile conditions.

2.4 Biostimulating effects

Plant weight and mortality was assessed at experiment endpoint to provide us with the information on possible biostimulating effects of the fungal inoculums.

341

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Protection against cabbage root fly

All EPF treatments decreased the number of CRF pupae and living larvae. The effect was most pronounced when *Metarhizium anisopliae* (1154) was applied, followed by the ‘Naturalis’ positive control and *Metarhizium anisopliae* (1868), however, this reduction was not statistically significant (Figure 1).

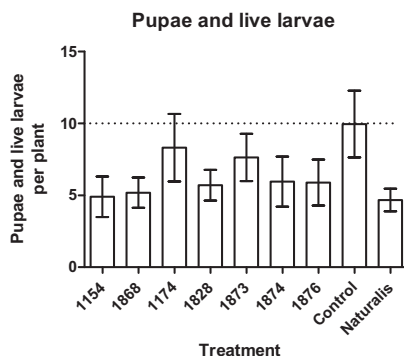


Figure 1: Protection of cauliflower roots indirectly assessed by counting living CRF larvae and pupae in individual root systems. The isolates tested were: *M. anisopliae* (1154 and 1868), *B. bassiana* (1174), *C. solani* (1828), *T. atroviride* (1873), *T. konigopsis* (1874) and *T. gamsii* (1876). *Naturalis* - commercial product based on *B. bassiana*.

3.2 Rhizoplane competence and endophytic colonization

Clonostachys solani (1828), *Trichoderma atroviride* (1873), *T. konigiopsis* (1874) and *T. gamsii* (1876) were successfully isolated from the rhizoplane. This indicates that our isolates could potentially survive on the rhizoplane throughout the duration of the field experiment. Endophytic colonization was not observed.

Only some fungal isolates were successfully reisolated from the rhizoplane. This is probably because of different ecological preferences of the tested fungi (Harman *et al.*, 2004; Pava-Ripoll *et al.*, 2011).

3.3 Biostimulating effects

Some treatments decreased (1154, 1174, 1828, 1873, 1874, Naturalis), while others (1868, 1876) increased plant mortality. Some treatments decreased (1154, 1873, 1876), while others (1868, 1828, 1874, Naturalis) increased plant weight (Figure 2). However, these effects were not statistically significant.

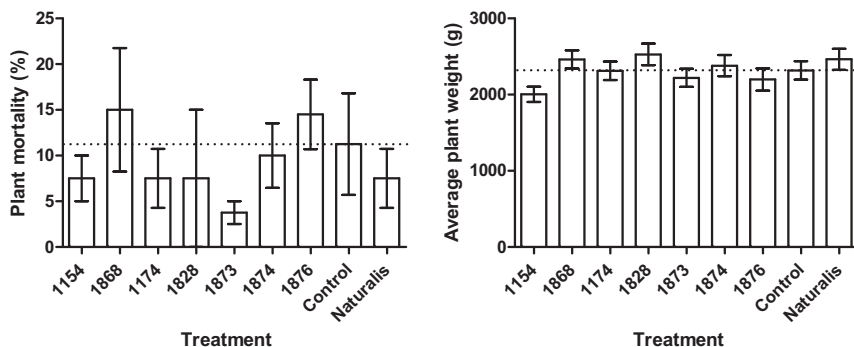


Figure 2: The effect of fungal isolates on plant mortality (left) and fresh biomass production (right). The isolates tested were: *M. anisopliae* (1154 and 1868), *B. bassiana* (1174), *C. solani* (1828), *T. atroviride* (1873), *T. konigiopsis* (1874) and *T. gamsii* (1876).

4 CONCLUSIONS

The added isolates offered some level of protection to the cauliflower roots as the number of pupae and live larvae was lower as in the control treatments. *Clonostachys solani*, *Trichoderma atroviride*, *T. konigiopsis* and *T. gamsii* were successfully isolated from the rhizoplane of cauliflower roots more than 60 days after inoculation and planting in the field. None of the fungi was isolated as an endophyte. Some treatments (1154, 1174, 1873 and Naturalis) decreased plant mortality. Treatments 1868, 1828, 1874 and Naturalis increased plant weight. All of the parameters observed were not significantly different from the control treatment. This is probably due to high control group variation as well as the low number of replicates (4). The experiment will be repeated. Hopefully, by incorporating this new data, we will be able to calculate significant difference between treatments.

The reduction of the pupae in the root systems as well as the successful isolation of our input fungal species from cauliflower rhizoplane suggests that the tested fungal species could provide a fungal-based biological control strategy against *Delia radicum*.

5 REFERENCES

- Bruck D.J., Snelling J.E., Dreves A.J., Jaronski S.T., 2005. Laboratory bioassays of entomopathogenic fungi for control of *Delia radicum* (L.) larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 89, 179–183.
- Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M., 2004. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2, 43 – 56
- Klingen I., Hajek A., Meadow R., Renwick J.A.A., 2002. Effect of brassicaceous plants on the survival and infectivity of insect pathogenic fungi. *BioControl* 47, 411–425.
- Pava-Ripoll M, Angelini C, Fang W, Wang S, Posada FJ, St Leger R., 2011. The rhizosphere-competent entomopathogen *Metarhizium anisopliae* expresses a specific subset of genes in plant root exudate. *Microbiology* 157, 47-55.
- Thomas M.B., Read A.F., 2007. Can fungal biopesticides control malaria? *Nature Reviews Microbiology* 5, 377 – 383.
- Toledo A.V., Virla E., Humber R.A., Paradell S.L., Lastra C.C., 2006. First record of *Clonostachys rosea* (Ascomycota: Hypocreales) as an entomopathogenic fungus of *Oncometopia tucumana* and *Sonesimia grossa* (Hemiptera: Cicadellidae) in Argentina. *Journal of Invertebrate Pathology* 92, 7-10.
- Vanninen I., Hokkanen H., Tyni-Juslin J., 1999: Attempts to control cabbage root flies *Delia radicum* L. and *Delia floralis* (Fall.) (Dipt., Anthomyiidae) with entomopathogenic fungi: laboratory and greenhouse tests. *Journal of Applied Entomology* 123, 107-113.

KAPARJI - PRENAŠALCI VIRUSOV VINSKE TRTE NA PRIMORSKEM

Melita ŠTRUKELJ¹, Irena MAVRIČ PLEŠKO², Mojca MARN VIRŠČEK³,
Jaka RAZINGER⁴, Gregor UREK⁵

^{1,2,3,4,5} Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

Kaparji predstavljajo precejšen delež tujerodnih organizmov, kateri se v zadnjih 20 letih v vse večjem obsegu pojavljajo na območju Slovenije. Kaparji so se močno razširili predvsem v nekaterih vinogradih na Primorskem, kjer povzročajo precejšnjo gospodarsko škodo. S sesanjem rastlinskega soka oslabijo trse in ob močnejšem napadu lahko povzročijo propad celotne rastline. Posredno škodo povzročajo z izločanjem medene rose, na katero se naselijo glive sajavosti, ki vplivajo na fotosintetsko aktivnost listov ter na kakovost in tržno vrednost grozdja. Kaparji so znani tudi kot prenašalci virusov, predvsem virusov zvijanja listov vinske trte (*Grapevine leafroll-associated virus* - GLRaV) in virusa vinske trte A (*Grapevine virus A* – GVA). V izbranem vinogradu v bližini Ajdovščine, kjer so imeli velike težave z boleznijo zvijanja listov vinske trte in napadom kaparjev, smo opravili vizualni pregled trsov in laboratorijske analize na zastopanost virusov na izbranih trsih. S testiranjem smo ugotovili močno okuženost vinograda z GLRaV-3, zasledili smo tudi nekaj primerov okužbe z GLRaV-1. V delu vinograda, kjer je bila okuženost z virusom pogostejša, so bili tudi kaparji zelo razširjeni. Našli smo kaparje iz družin Coccidae in Pseudococcidae. Na podlagi rezultatov in opazovanj domnevamo, da so vzrok za širjenje virusnih okužb v tem vinogradu kaparji, zmožnost izbrane populacije za prenos virusov pa bomo preverili še s poskusi prenosa virusov v laboratorijskih razmerah.

Ključne besede: bolezenska znamenja, GLRaV, kaparji, vinska trta, virusi

ABSTRACT

SCALE INSECTS - VECTORS OF GRAPEVINE VIRUSES IN PRIMORSKA

Scale insects represent a significant part of non-native organisms, which were introduced in greater extent to Slovenia over the past 20 years. They have greatly expanded mainly in vineyards of Primorska region and cause considerable economic damage. These pests weaken the vines by sucking of plant sap and heavy attack may lead to decline of the plant. They cause indirect damage due to honeydew secretion which is a good medium for sooty mold growth. Mold affects the photosynthetic activity and consequently fruit quality and market value of grapes. Scale insects are also known as plant virus vectors, in particular of *Grapevine leafroll-associated viruses* (GLRaV) and *Grapevine virus A* (GVA). Viruses and scale insects were analysed in a vineyard near Ajdovščina with a heavy outbreak of grapevine leafroll disease. The results of the study showed high infection with GLRaV-3 and only few cases of infection with GLRaV-1. Mealybugs (Pseudococcidae) and/or soft scales (Coccidae) were found regularly in parts of the vineyard with higher rate of virus infection. These results indicate that the spread of GLRaV in this vineyard is associated with dynamics

¹ mlada raziskovalka, Hacquetova ulica 17, SI-1001 Ljubljana, e-mail: melita.strukelj@kis.si

² dr., prav tam

³ doc. dr., prav tam

⁴ dr., prav tam

⁵ doc. dr., prav tam

of scale insects. Transmission experiment with the population of scale insects from this vineyard will be performed under laboratory conditions.

Key words: GLRaV, grapevine, scale insects, symptoms, viruses

1 UVOD

Vinska trta uspeva v mnogih državah po svetu. Okužbe te gospodarsko pomembne rastline z virusi lahko povzročijo veliko izgubo pridelka in posledično veliko gospodarsko škodo. Zato virusne bolezni sodijo med najbolj gospodarsko uničujoče bolezni vinske trte, saj trte po okužbi ni več mogoče ozdraviti.

Bolezen zvijanja listov vinske trte je ena najpomembnejših in najbolj razširjenih virusnih bolezni vinske trte. Prizadene lahko vse sorte in podlage, vendar bolezenska znamenja niso nujno izražena pri vseh. Najbolj značilno bolezensko znamenje je zvijanje listov. Bolezen povzroča veliko izgubo pridelka, zakasnjeno in neenakomerno dozorevanje jagod in povečano kislost grozdnega soka (Martelli in Boudon-Padieu, 2006). Virusi se ob zastopanosti prenašalcev zelo hitro širijo ter okužijo celotne vinograde v le nekaj letih, zato je pomembno, da se zavedamo nevarnosti virusnih okužb tudi v primerih, ko bolezen še ni razvita ter ni značilnih bolezenskih znamenj.

Kaparji so tujerodne fitofagne žuželke, ki so se v zadnjih letih močno razširili predvsem v nekaterih vinogradih na Primorskem (Seljak, 2011). Hranijo se z rastlinskim sokom in s tem oslabijo rastlino, povzročijo razbarvanje in prezgodnje odpadanje listov, deformacije poganjkov, poleg tega pa so tudi znani prenašalci rastlinskih virusov. Posredna škoda, ki jo povzročajo, je izločanje medene rose, na katero se naselijo glive sajavosti, ki vplivajo na fotosintetsko aktivnost listov ter na kakovost in tržno vrednost grozdja.

Kaparji so prenašalci virusov zvijanja listov vinske trte (*Grapevine leafroll-associated virus - GLRaV*), ki povzročajo eno najpomembnejših in najbolj razširjenih virusnih bolezni vinske trte. Najpomembnejša med virusi vinske trte in tudi najbolj razširjena virusa v slovenskih vinogradih, GLRaV-1 in -3, prenašajo kaparji iz družin Pseudococcidae in Coccidae (*Parthenolecanium* sp., *Pulvinaria* sp. in *Neopulvinaria* sp.). Po podatkih Seljaka in Žezline (2007) se v Sloveniji na vinski trti pojavljajo štiri vrste kaparjev: veliki trtni kapar (*Neopulvinaria innumerabilis*), navadni trtni kapar (*Pulvinaria vitis*), češpljev kapar (*Parthenolecanium corni*) (Coccidae) in smokvin volnati kapar (*Planococcus ficus*). Povečanje populacij in razširjenost kaparjev lahko pospešita širjenje virusov v vinogradih. Posledica tega bi bila ogromna gospodarska škoda, tako zaradi vpliva virusov, kot tudi zaradi samih kaparjev.

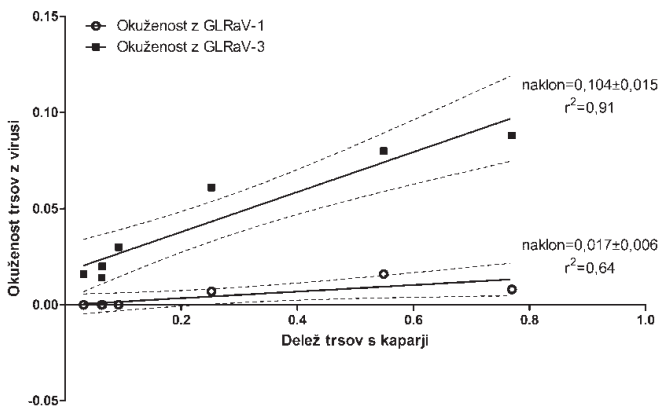
2 MATERIALI IN METODE

Liste vinske trte z vidnimi znamenji okužbe z virusi zvijanja listov vinske trte in kaparje smo nabrali v izbranem vinogradu v bližini Ajdovščine septembra 2012. Glede zastopanosti kaparjev smo pregledali vse trse vinograda. Za detekcijo GLRaV v rastlinskem materialu smo uporabili serološko metodo DAS-ELISA, uporabljali smo protitelesa proizvajalca Bioreba. Za detekcijo GLRaV v kaparjih pa smo uporabili metodo reverzne transkripcije in verižne reakcije s polimerazo (RT-PCR) s specifičnimi začetnimi oligonukleotidi za GLRaV-1 in -3. PCR produkte smo analizirali na 1 % agaroznem gelu obarvanem z etidijevim bromidom.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Vinograd smo razdelili na 7 delov (podvzorcev). Na podlagi podatkov teh podvzorcev so rezultati analize 194 rastlinskih vzorcev pokazali močno okuženost vinograda z GLRaV-3,

zasledili smo tudi nekaj primerov okužbe z GLRaV-1. V delu vinograda, kjer je bila okuženost z virusom pogostejša, so bili tudi kaparji zelo razširjeni. Povezanost med stopnjo okuženosti trt z GLRaV-3 in zastopanostjo kaparjev je tesna (slika 1), kar kaže na veliko verjetnost razširjanja tega virusa s kaparji.

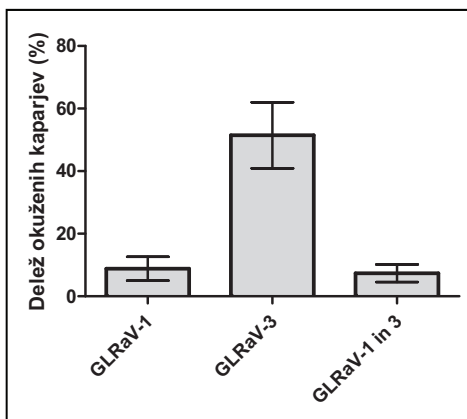


Slika 1: Okuženost trsov z virusi v odvisnosti od napadenosti trsov s kaparji in linearni regresijski model s 95 % intervalom zaupanja, dobljen na osnovi surovih podatkov sedmih pod vzorcev.

Figure 1: Vines infected with viruses, depending on the infestation by scale insects and linear regression model with 95% confidence interval, obtained on the basis of raw data from seven subsamples.

346

V vinogradu smo našli kaparje iz družin Coccidae in Pseudococcidae. Od 68 analiziranih vzorcev kaparjev jih je bilo 51,5 % okuženih z GLRaV-3, 8,8 % z GLRaV-1 in 7,4 % z obema virusoma (GLRaV-1 in GLRaV-3). Na trsih okuženih z GLRaV so bili tudi vzorci kaparjev okuženi s tem virusom, zato domnevamo, da so ravno kaparji vzrok širjenja virusnih okužb v obravnavanem vinogradu.



Slika 2: Delež okuženosti kaparjev z GLRaV-1, GLRaV-3 in z obema virusoma.

Figure 2: The proportion of scale insects infected with GLRaV-1, GLRaV-3 and with both viruses.

GLRaV-1 in -3 sta najbolj razširjena virusa po svetu, ki povzročata veliko gospodarsko škodo v vinogradništvu, kaparji, ki so njihovi prenašalci, pa so razširjeni v skoraj vseh vinorodnih območjih. Povečanje populacij in razširjenost kaparjev ter posledična razširitev virusnih okužb lahko povzroči veliko škodo v vinogradništvu. Na podlagi rezultatov in opazovanj domnevamo, da so vzrok za širjenje virusnih okužb v izbranem vinogradu kaparji, zmožnost izbrane populacije za prenos virusov pa bomo preverili še s poskusi prenosa virusov v laboratorijskih pogojih.

4 ZAHVALA

Raziskava je bila financirana s strani ARRS kot del projekta za usposabljanje mlade raziskovalke po pogodbi št. 1000-11-310235.

5 LITERATURA

- Cabaleiro C., Couceiro C., Pereira S., Cid M., Barrasa M, Segura A. 2008. Spatial analysis of epidemics of *Grapevine leafroll associated virus-3*. *Journal of Plant Pathology*, 121: 121-130.
- Gugerli P. 2003. Grapevine Leafroll and related viruses. V: Extended Abstracts 14th Meeting of the ICVG, September 12-17, 2003, Locorotondo (Bari), Italy: 25-31.
- Hommay G., Le Maguet J., Komar V., Lemaire O., Herrbach E. 2009. Transmission of *Grapevine leafroll-associated virus-1* and -3 (*Ampelovirus*) and *Grapevine virus A (Vitivirus)* by natural populations of soft scales and mealybugs in the north-easteren French vineyard. V: 16th Meeting of the International Council for the Study of Viruses and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG), Dijon, France, 31 Avgust-4 september 2009, Dijon, France: 286-287.
- Martelli G.P. 1993. Graft-transmissible diseases of grapevines. Handbook for detection and diagnosis. Martelli G.P. (ed). Rome, FAO: 263 str.
- Mavrič Pleško I., Viršček Marn M., Žežlina I., Urek G. 2011. Poskus prenosa virusov zvijanja listov vinske trte (GLRaV) z velikim trtnim kaparjem (*Neopulvinaria innumerabilis*). Izvlečki referatov 10. Slov. posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Podčetrtek, 2011: 47-48.
- Moutinho-Pereira J., Correia C.M., Goncalves B., Bacelar E.A., Coutinho J.F., Ferreira H.F., Lousada J.L., Cortez M.I. 2012. Impacts of leafroll-associated viruses (GLRaV-1 and -3) on the physiology of the Portugese grapevine cultivar 'Touriga Nacional' growing under field conditions. *Annals of Applied Biology*, 160: 237-249.
- Seljak G. 2007: Scale insects introduced into Slovenia in the last fifty years. Proceedings of the XI. International Symposium on Scale Insect Studies Oeiras, 24-27 Septemeber 2007, Portugal: 121-127.
- Seljak G. 2010. A checklist of scale insects of Slovenia. *Entomologica Hellenica*, 19: 99-113.
- Seljak G. 2011. Analiza vnosa in odkrivanja tujerodnih fitofagnih žuželk in pršic v Slovenijo. Izvlečki referatov 10. slov. posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Podčetrtek, 2011: 16-17.
- Tomažič I., Mavrič Pleško I., Petrovič N., Ravnikar M., Korošec-Koruza Z. 2008. Introduction of Grapevine virus B and Grapevine leafroll-associated virus 2 testing in sanitary selection of grapevine. *Acta agriculturae Slovenica*, 91: 75-85.

BIOTIČNA UČINKOVITOST INSEKTICIDOV PRI ZATIRANJU AMERIŠKEGA ŠKRŽATKA *Scaphoideus titanus* Ball (1932) V VINORODNI DEŽELI POSAVJE V LETIH 2011 IN 2012

Igor ZIDARIČ¹, Jaka RAZINGER², Vojko ŠKERLAVAJ³

^{1,2,3} Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

IZVLEČEK

Ameriški škržatek *Scaphoideus titanus* Ball (1932) je edini naravni in tudi glavni prenašalec karantenske fitoplazme Grapevine Flavescence dorée (FD), povzročiteljice zlate trsne rumenice na vinski trti. Najučinkovitejši ukrep za preprečevanje širjenja FD je zatiranje ameriškega škržatka z učinkovitimi fitofarmaceutskimi sredstvi. Z namenom določitve biotične učinkovitosti nekaterih insekticidov smo v letih 2011 in 2012 izvedli poskus v vinogradu v Ručetni vasi v Beli krajini, kjer je bila leta 2010 na rumenih lepljivih ploščah ugotovljena visoka populacija odraslih ameriških škržatkov. V obeh letih smo opravili po dve škropljenji. V poskusu smo uporabili naslednje pripravke: Actara 25 WG, Decis 2,5 EC, Kenyatox verde, Pyrinex 25 CS, Reldan 22 EC in Steward WG. Ocenjevanje smo opravili s štejem ličink različnih razvojnih stopenj in štejem odraslih žuželk. Učinkovitost insekticidov smo izračunali po Abbottu in Henders - Tiltonovi enačbi. Opravili smo analizo variance in Duncanov razvrstitveni test pri 95 % stopnji zaupanja. Med posameznimi postopki smo ugotovili statistično značilne razlike. Najbolj učinkovit je bil insekticid Actara 25 WG, najmanj pa Steward WG.

Ključne besede: zlata trsna rumenica, ameriški škržatek, fitofarmaceutska sredstva

ABSTRACT

FIELD EFFICACY EVALUATION OF SEVERAL INSECTICIDES AGAINST *Scaphoideus titanus* Ball (1932) IN WINE-GROWING REGION POSAVJE CONDUCTED IN YEARS 2011 AND 2012

American grapevine leafhopper *Scaphoideus titanus* Ball (1932) is the only natural and the main vector for quarantine Grapevine Flavescence dorée phytoplasma (FD), the causative agent of the Grapevine yellows disease. The most effective measure for prevention of FD spread is vector suppression with effective plant protection products. The purpose of this research was to test several insecticides for their ability to control the population of American leafhopper. The field efficacy trials were conducted in 2011 and 2012 in a vineyard located in Ručetna vas, Bela Krajina, where high population of adult American leafhoppers was determined in 2010. Two sprayings were performed each year. The following insecticides were used: Actara 25 WG, Decis 2.5 EC, Kenyatox verde, Pyrinex 25 CS, Reldan 22 EC and Steward WG. Their efficacy was assessed by counting different larval stages and adults. The effectiveness of the insecticides was calculated after Abbott and Henders-Tilton equation. ANOVA and Duncan's arrangement test were performed. Statistically significant differences were found between the different treatments. The treatment with Actara 25 WG was the most effective while the treatment with Steward WG was the least effective.

¹ dipl. inž. agr., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

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

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

Key words: Grapevine yellows, American grapevine leafhopper, plant protection products

1 UVOD

Ameriški škržatek je bil v Sloveniji prvič odkrit leta 1983 (Seljak, 1985), danes pa je že razširjen v vseh treh vinorodnih deželah (Seljak, 2008). Je univoltilna (Decante, 2006) in monofagna živalska vrsta (Boudon-Padieu, 2003). Je edini naravni prenašalec in tudi glavni prenašalec karantenske fitoplazme Grapevine Flavescence doree (FD) (Morri et al., 2002, Boudon-Padieu, 2003), povzročiteljice zlate trsne rumenice na vinski trti. FD se širi po rastlinskem prevodnem sistemu in povzroča propadanje vinske trte. V Sloveniji smo jo prvič potrdili leta 2005 (Seljak in Orešek, 2007). Najučinkovitejši ukrep za preprečevanje širjenja bolezni je zatiranje ameriškega škržatka z učinkovitimi insekticidi. Z namenom ugotavljanja biotične učinkovitosti insekticidov smo v letih 2011 in 2012 v vinorodni deželi Posavje izvedli poskus zatiranja ameriškega škržatka.

2 MATERIALI IN METODE

Preizkušanje insekticidov za zatiranje ameriškega škržatka smo opravili v letih 2011 in 2012 v vinogradu v Ručetni vasi v Beli krajini, kjer je bila v letu 2010 na rumenih lepljivih ploščah (RLP) ocenjena visoka populacija odraslih žuželk. Vsako leto smo škropili dvakrat. Prvič, ko je bila večina ličink v L3 razvojni fazi, drugič pa, ko so se na RLP pojavili prvi odrasli osebki ameriškega škržatka. Ocenjevanje smo opravili na 10 trtah v sredinskih dveh vrstah s štejem ličink na 100 listih v treh višinskih nivojih na vsaki osnovni parceli in štejem odraslih žuželk, ki smo jih ujeli na (RLP), prav tako postavljene na vsako parcelico. Ocenjevanje smo opravili pred in nato 3 in 7 dni po škropljenju, v nadaljevanju pa na 7 oz. 14 dni. Poskus je bil zasnovan kot naključni blok v 4 ponovitvah. Poskusna parcelica je bila velika 50,4 m² in je obsegala 28 trt posajenih v 4 vrste, sadilne razdalje 1,8 x 1 m. Škropili smo z motorno škropilnico STIHL SR 400 pri porabi vode 500 l/ha.

Preglednica 1: Uporabljena fitofarmaceutvska sredstva v poskusu.

Sredstvo	Aktivna snov	Odmerek kg, l/ha
Actara 25 WG	tiametoksam 25 %	0,2
Kenyatox verde EC	piretrin 16 %	0,8
Decis 2,5 EC	deltametrin 2,5 %	0,5
Pyrinex 25 CS	klorpirifos-etil 25 %	1
Steward WG	indoksakarb 30 %	0,15
Reldan 22 EC	klorpirifos-metil 22,5 %	1
Ulmasud B	kamene moke in gline	5

3 REZULTATI

3.1 Ocenjevanje populacije ličink na listih

Po prvem škropljenju smo opravili 4 ocenjevanja in v letu 2011 za vsako izračunali učinkovitost po Abbottu, v letu 2012 pa zaradi visoke variabilnosti začetne populacije po Henders-Tiltonovi enačbi. Z analizo variance in Duncanovim razvrstitvenim testom smo pri 95 % stopnji zaupanja ugotavljali statistično značilne razlike med posameznimi postopki.

Preglednica 2: Učinkovitost zatiranja ličink ameriškega škrčatka v letu 2011.

Postopek	Prvo škropljenje (22.06.2011)	Učinkovitost zatiranja ličink (%)			
		25.6.2011	30.6.2011	7.7.2011	13.7.2011
T1	Kontrola	- e*	- d	- d	- c
T2	Actara 25 WG	96,3 ab	100,0 a	100,0 a	100,0 a
T3	Kenyatox verde EC	70,1 bc	78,7 ab	68,7 b	62,5 ab
T4	Decis 2,5 EC	99,1 a	98,9 a	98,5 a	97,5 a
T5	Pyrinex 25 CS	74,8 ab	87,6 a	91,0 a	97,5 a
T6	Pyrinex 25 CS + Ulmasud B	45,8 cd	82,0 ab	92,5 a	97,5 a
T7	Steward WG	37,4 d	33,7 c	26,9 c	22,5 bc
T8	Steward WG + Ulmasud B	42,1 d	60,7 b	17,9 cd	25,0 bc
T9	Actara 25 WG	100,0 a	100,0 a	100,0 a	97,5 a

* Oznake a, b, c, d, e predstavljajo homogenost skupin pri 95 % stopnji zaupanja, na podlagi Duncanovega razvrstitvenega testa.

Preglednica 3: Učinkovitost zatiranja ličink ameriškega škrčatka v letu 2012.

Postopek	Prvo škropljenje (6.7.2012)	Učinkovitost zatiranja ličink (%)			
		9.7.2012	12.7.2012	19.7.2012	26.7.2012
T1	Kontrola	- c*	- b	- b	- b
T2	Actara 25 WG	92,3 a	100 a	87,4 a	100 a
T3	Kenyatox verde EC	42,4 b	74,9 a	63,4 a	70,3 a
T4	Decis 2,5 EC	100 a	100 a	100 a	100 a
T5	Pyrinex 25 CS	88,0 a	94,1 a	100 a	100 a
T6	Pyrinex 25 CS	92,0 a	88,6 a	100 a	100 a
T7	Reldan 22 EC	93,8 a	90,9 a	100 a	100 a
T8	Actara 25 WG	100 a	100 a	100 a	100 a
T9	Actara 25 WG	100 a	100 a	100 a	100 a

* Oznake a, b, c predstavljajo homogenost skupin pri 95 % stopnji zaupanja, na podlagi Duncanovega razvrstitvenega testa.

Najvišjo učinkovitost (nad 95 %) pri zatiranju ličink ameriškega škrčata smo v letu 2011 pri prvem ocenjevanju dosegli pri postopkih T9 (Actara), T4 (Decis) in T2 (Actara). Do zadnjega ocenjevanja pa je učinkovitost narasla tudi pri postopkih T5 (Pyrinex) in T6 (Pyrinex + Ulmasud). Vsi ti postopki se med seboj niso statistično značilno razlikovali. Postopka T7 (Steward) in T8 (Steward + Ulmasud) sta bila statistično značilno manj učinkovita, prav tako se pri zadnjem ocenjevanju nista razlikovala od kontrole, zato smo ju v letu 2012 izločili. V letu 2012 se postopki med seboj niso značilno razlikovali, pri prvem ocenjevanju je bil značilno manj učinkovit le postopek T3 (Kenyatox verde).

3.2 Ocenjevanje populacije odraslih ameriških škrčatkov na RLP

Po drugem škropljenju smo na 7 oz. 14 dni, do končanega naleta, ocenjevali ulov odraslih žuželk na RLP, ki smo jih obesili v sredinsko vrsto v sredino listne mase in izračunali učinkovitost zmanjšanja populacije odraslih žuželk po Abbottu. Po vsakem ocenjevanju smo RLP zamenjali z novimi. Z analizo variance in Duncanovim razvrstitvenim testom smo pri 95 % stopnji zaupanja ugotavljali statistično značilne razlike med posameznimi postopki. Ocenjevanje naleta na RLP smo izvajali do sredine oktobra, ko se je končal nalet odraslih žuželk. Rezultate posameznih ocenjevanj smo sešteli in izračunali skupen ulov in učinkovitost zatiranja. Najvišjo učinkovitost smo v letu 2011 dosegli pri postopku T9, kjer smo dvakrat škropili s pripravkom Actara (88,7 %). Nekoliko manj učinkoviti so bili postopki T6 (78,3 %), kjer smo škropili s pripravkoma Pyrinex + Ulmasud in Reldan, ter T4 (73,5 %) in T2 (62,9 %), kjer smo škropili samo enkrat s pripravkom Decis oz. Actara.

Preglednica 4: Skupni ulov odraslih ameriških škrdžatkov in učinkovitost zmanjšanja njihove populacije po postopkih v letu 2011.

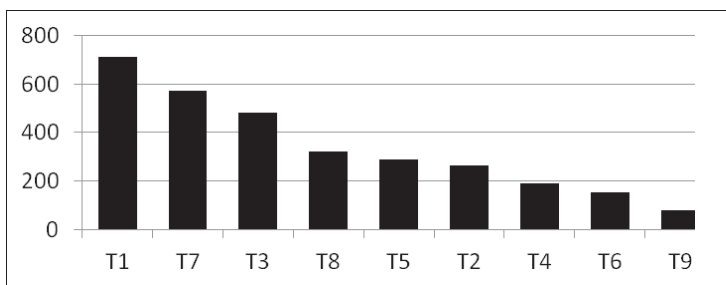
Postopek	Prvo škropljenje (22.06.2011)	Drugo škropljenje (14.07.2011)	skupni ulov ameriških škrdžatkov na RLP	Učinkovitost (%)
T1	Kontrola	Kontrola	714	- e*
T2	Actara 25 WG	-	265	62,9 ab
T3	Kenyatox verde EC	Kenyatox verde EC	482	32,5 cd
T4	Decis 2,5 EC	-	189	73,5 ab
T5	Pyrinex 25 CS	Pyrinex 25 CS	288	59,7 bc
T6	Pyrinex 25 CS + Ulmasud B	Reldan 22 EC	155	78,3 ab
T7	Steward WG	Steward WG	571	20,0 de
T8	Steward WG + Ulmasud B	Reldan 22 EC	320	55,2 bc
T9	Actara 25 WG	Actara 25 WG	81	88,7 a

* Oznake a, b, c, d, e predstavljajo homogenost skupin pri 95 % stopnji zaupanja, na podlagi Duncanovega razvrstitvenega testa.

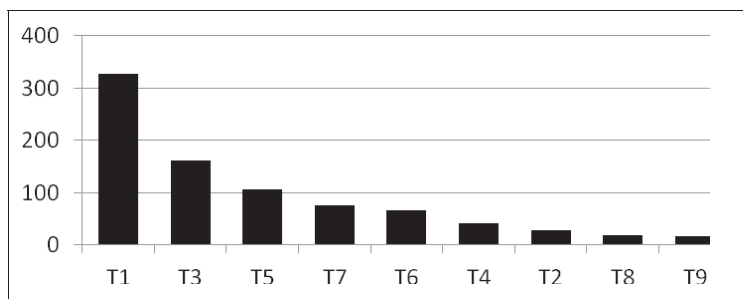
Preglednica 5: Skupni ulov odraslih ameriških škrdžatkov in učinkovitost zmanjšanja njihove populacije po postopkih v letu 2012.

Postopek	Prvo škropljenje (6.7.2012)	Drugo škropljenje (1.8.2012)	Skupni ulov ameriških škrdžatkov na RLP	Učinkovitost (%)
T1	Kontrola	Kontrola	328	- d*
T2	Actara 25 WG	-	29	91,2 ab
T3	Kenyatox verde EC	Kenyatox verde EC	162	50,6 c
T4	Decis 2,5 EC	-	42	87,2 ab
T5	Pyrinex 25 CS	Pyrinex 25 CS	106	67,7 bc
T6	Pyrinex 25 CS	Reldan 22 EC	67	79,6 ab
T7	Reldan 22 EC	Actara 25 WG	75	77,1 ab
T8	Actara 25 WG	Reldan 22 EC	19	94,2 a
T9	Actara 25 WG	Actara 25 WG	17	94,8 a

* Oznake a, b, c, d predstavljajo homogenost skupin pri 95 % stopnji zaupanja, na podlagi Duncanovega razvrstitvenega testa.



Slika 1: Skupni ulov odraslih ameriških škrdžatkov na RLP v letu 2011.



Slika 2: Skupni ulov odraslih ameriških škržatkov na RLP v letu 2012.

Med temi postopki ni bilo statističnih razlik. Neučinkovit pa je bil postopek T7, kjer smo dvakrat škropili s pripravkom Steward, saj se ni statistično značilno razlikoval od kontrole. V letu 2012 sta bila najučinkovitejša postopka T9 (94,8 %), kjer smo dvakrat škropili z Actaro in T8 (94,2 %), kjer smo škropili s pripravkoma Actara in Reldan. Statistično značilno se od omenjenih postopkov niso razlikovali postopki T2 (91,2 %) in T4 (87,2 %), kjer smo škropili le enkrat s sredstvom Decis oz. Actara, ter postopka T6 (79,6 %), kjer smo škropili s pripravkoma Reldan in Actara, ter T7 (77,1 %), kjer smo škropili s pripravkoma Pyrinex in Reldan. Statistično značilno manj učinkovita sta bila pri zatiranju odraslih ameriških škržatkov postopka T5 (67,7 %) in T3 (50,6 %), kjer smo dvakrat škropili s pripravkom Pyrinex oz. Kenyatox verde. V letu 2011 smo na RLP na kontroli ulovili 714 v letu 2012 pa 328 odraslih ameriških škržatkov.

352

4 SKLEPI

Pri zatiranju ličink sta se v obeh letih že 3 dni po škropljenju kot najučinkovitejši pokazali sredstva Actara in Decis. Nekoliko nižjo učinkovitost pa smo pri prvem ocenjevanju v obeh letih dosegli s sredstvom Pyrinex in v letu 2012 s sredstvom Reldan. Vsa sredstva so se izkazala za učinkovita tudi 3 tedne po škropljenju. Duncanov test med njimi ni pokazal statistično značilnih razlik. Značilno slabše pa je bilo v letu 2011 sredstvo Steward, zato ga v letu 2012 nismo več uporabili. Prav tako smo ugotovili, da dodatek Ulmasuda B k sredstvom Pyrinex in Steward ni izboljšal njunega delovanja. Pri zatiranju odraslih ameriških škržatkov smo v obeh letih ugotovili da je bilo najučinkovitejše dvakratno škropljenje s sredstvom Actara, v letu 2012 pa tudi kombinacija sredstev Actara in Reldan. V letu 2012 smo visoko učinkovitost dosegli tudi z enkratnim škropljenjem s sredstvom Decis in Actara, nekoliko nižjo pa s kombinacijo škropljenja Reldan in Actara ter Pyrinex in Reldan. Med omenjenimi postopki v obeh letih ni bilo statistično značilnih razlik. Značilno slabši je bil v obeh letih Pyrinex, v letu 2011 pa tudi Steward. Oba sta za zatiranje odraslih ameriških škržatkov manj primerna. Učinkovitost biotičnega insekticida Kenyatox verde se pri zatiranju ličink v letu 2011, ko je bila populacija nizka, ni statistično značilno razlikovala od najučinkovitejših sredstev. Pri zatiranju visoke populacije ličink, kot je bila v letu 2012 in za zatiranje odraslih žuželk pa je bila učinkovitost insekticida Kenyatox verde značilno slabša in ga zato ne priporočamo.

5 LITERATURA

Boudon-Padiou, E., 2003. The situation of grapevine yellows and current research directions: distribution, diversity, vectors, diffusion and control. Proceedings of XV International Conference of Virus and Virus-like diseases of Grapevine: 47-53.

- Decante, D., van Helden, M., 2006. Population ecology of *Empoasca vitis* (Göthe) and *Scaphoideus titanus* (Ball) in Bordeaux vineyards: Influence of migration and landscape. *Crop protection* 25: 696-704.
- Mori, M, Bressan, A, Martini, M, Guadagnini, M, Girolami, V, Bertaccini, A, 2002. Experimental transmission by *Scaphoideus titanus* Ball of two Flavescence doree type phytoplasmas. *Vitis* 41: 99-102.
- 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., Orešek, E., 2007. Prvi pojavi zlate trsne rumenice v Sloveniji: Kako naprej? Zbornik predavanj in referatov 8. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin. Radenci, 6. – 7. Marec 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): 201-202.

FIRST RECORD OF THE ORANGE SPINY WHITEFLY, *Aleurocanthus spiniferus* Quaintance, 1903 (Hemiptera: Aleyrodidae), IN CROATIA

Mladen ŠIMALA¹, Tatjana MASTEN MILEK²

¹ Croatian Centre for Agriculture, Food and Rural Affairs – Institute for Plant Protection, Zagreb, Republic of Croatia

² Croatian Centre for Agriculture, Food and Rural Affairs, Zagreb, Republic of Croatia

ABSTRACT

Orange spiny whitefly, *Aleurocanthus spiniferus* Quaintance, 1903 originated in south-east Asia and has spread widely in tropical and subtropical Asia, and into Africa and the Pacific. *Citrus* spp. are the main hosts of economic importance, but *A. spiniferus* has been recorded from woody hosts of more than 15 plant families. This species is listed as a quarantine threat to Europe and is included in the EU Annex II/A1 and in the EPPO A2 list. In Europe, it was reported for the first time in Italy, in 2008. In May 2012, *A. spiniferus* was first found in Croatia, on ornamental potted orange seedlings (*Citrus x aurantium* L.) from domestic production in one nursery garden in Split. The pest was detected during a regular phytosanitary inspection of a garden centre. Infested orange plants have locally numerous small, brownish to black scales with a short fringe of white wax on the underside of leaves. The identification of the whitefly species was carried out by the Institute's Laboratory for Zoology and the result was confirmed in Plant Protection Service, Wageningen. The origin of the infestation of this alien species is still unknown, but it is assumed that the infection originated from imported plant material from Italy. *A. spiniferus* causes general weakening of seriously infested plants due to sap loss and the growth of sooty mould. Dense colonies of whitefly immature stages develop on leaf undersides, whereas the adults fly actively when disturbed. Leaves and fruits have spots of sticky, transparent honeydew, which become covered in black sooty mould fungus. A heavy infestation gives trees an almost completely black appearance. The potential host range of *A. spiniferus* in the EPPO region would be essentially citrus, with some possibility of establishment on other woody plantation crops growing in the southern part of the region in climatic conditions suitable for the pest. It presents a potential risk to citrus in Croatia, especially to production of mandarin in Neretva river valley.

Key words: *Aleurocanthus spiniferus*, Croatia, first record

1 INTRODUCTION

The Orange Spiny Whitefly, *Aleurocanthus spiniferus* Quaintance, 1903 originated in tropical Asia and has spread to Africa, Australia and the Pacific Islands. *Aleurocanthus* Quaintance & Baker is a paleotropical genus, currently including over 70 described species (Martin, 2005). *A. spiniferus* is listed as a quarantine threat to Europe and is included in the EU Annex II/A1 and in the EPPO A2 list. In Europe, it was reported for the first time in Italy, in 2008 (Porcelli, 2008). In May 2012, a whitefly species *A. spiniferus* was first found in Croatia, on ornamental potted orange seedlings (*Citrus x aurantium* L.) in one nursery garden in Split.

¹ dr. sc., Rim 98, 10000 Zagreb, Croatia

² dr. sc., Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Croatia

A. spiniferus is a polyphagous insect. *Citrus* spp. are the main hosts of economic importance, but according to Martin (1996), the pest has been recorded from woody hosts of more than 15 plant families, for example grapevine, pear, peach, guava, and rose. Dense colonies of whitefly immature stages develop on leaf undersides, whereas the adults fly actively when disturbed. Primarily, *A. spiniferus* affects host plants by sucking the sap, but it also causes indirect damage by producing honeydew and subsequently promoting the growth of black sooty mould fungus. Due to these symptoms, it causes general weakening of seriously infested plants. Heavy infestations of this insect can cause sooty mould to completely cover the leaf surface and negatively affect photosynthesis.

As other whitefly species, *A. spiniferus* has six developmental stages: egg, crawler (1st instar), two sessile nymphal instars (2nd and 3rd instars), the puparium (4th instar) and adult. All stages are found on the leaves. Eggs are elongate-oval to kidney-shaped, 0,2 mm long, laid in a very characteristic spiral pattern, yellowish at first, turning darker as the embryo develops. The first instar is active, 6-legged, elongate, 0,3 x 0,15 mm, dusky in colour, with 2 long and several shorter, radiating spiny filaments. The second and third instars are sessile, ovate and dark-brown to black in colour. The last nymphal instar is usually called a puparium is ovate and shiny-black. Female pupae are about 1,25 mm in diameter, whereas male pupae are smaller, up to 1 mm in diameter. The puparium on dorsal surface has many long, acute glandular spines and it is surrounded by a white fringe of waxy secretion (EPPO/CABI, 1997). Adult males of *A. spiniferus* are smaller than females and are up to 1.35 mm long, females are about 1.7 mm in length. The wings of adults are metallic grey-blue in appearance and light markings on the wings appear to form a band across the middle of the red abdomen. The eyes are reddish-brown and the antennae and legs are white with variable pale yellow markings (OEPP/EPPO, 2002).

Depending on conditions, the life cycle of *A. spiniferus* generally takes 2-4 months, but there can be three to six overlapping generations a year. The development is most favoured by air temperatures of 20-34°C (optimum 25,6°C) and relative humidity of 70-80 %. The species does not survive at temperatures below freezing and is not found in areas with temperatures of 43°C or over (EPPO/CABI, 1997).

2 MATERIALS AND METHODS

The quarantine whitefly species *A. spiniferus* was detected during a regular phytosanitary inspection of the plants in one garden centre in Split, using the visual survey of potential host plants with the help of a magnifying lens of 10 x magnification on presence of pest puparia or pupal cases. The officary leaf sample with preimaginal whitefly stages taken by phytosanitary inspector from infested orange plants (*Citrus x aurantium* L.) were placed and stored by dry method in an envelope until insect preparation. The data relevant for faunistic entry were recorded on the outside of the envelope (Martin, 1987; 1999). The preparation and identification of the whitefly species were carried out by the Institute's Laboratory for Zoology. The taxonomy of Aleyrodidae is based on the empty pupal cases and their derm (external surface) morphology, although with adequate maceration and subsequent rinsing, puparia from which adults have not yet emerged can make excellent mounts too (Martin, 1987). The whitefly collected in leaf sample was identified to the species level on the basis of morphological characters of puparium and 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 the preparation procedure described by Martin (1999) in EPPO diagnostic protocol (OEPP/EPPO, 2002). For the species identification the following keys were used: Martin (1987), Dubey & Ko (2012), as well as a key presented in EPPO diagnostic protocol (OEPP/EPPO, 2002). For an accurate identification, a stereomicroscope (Nikon SMZ 800) and a compound microscope (Olympus BX 50) were used. Verification of our identification of

whitefly species sampled on orange leaves in Split was done by M.G.M. Jansen from PPS, Wageningen, The Netherlands. The locality of first record of whitefly species *A. spiniferus* in Croatia was marked using geography coordinates and according to the Universal Transverse coordinate system (Horvat et al., 2003).

3 RESULTS AND DISCUSSION

The quarantine whitefly species *A. spiniferus* was reported for the first time in Croatia in May 2012 on ornamental potted orange seedlings in one garden centre in Split (42°30'29"N, 16°26'40"E; UTM 33T XJ 1919 presented on Figure 1), a city on the coast of the Adriatic Sea.

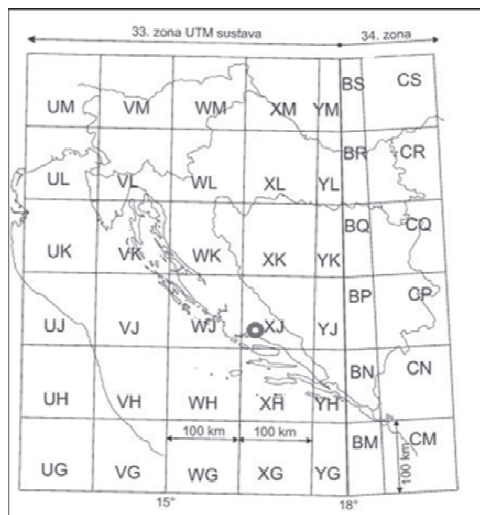


Figure 1: UTM grid of Republic of Croatia and finding place of *A. spiniferus*

Infested orange plants had locally numerous small, brownish to black scales with a short fringe of white wax on the underside of leaves. As in the case of Italy, the owner noticed the infection of orange plants by pest in early 2012, but the pest was misidentified as a scale insect. Orange seedlings were of domestic origin, produced in a nearby nursery on Meje, owned by the same company. By visual control of orange seedlings and other potential pest host plants (*Citrus* spp., *Hedera* sp. *Vitis vinifera* L.) on the place of origin of infested plants, a species *A. spiniferus* was not found. Also, the imported host plants (*Citrus* spp., *Vitis vinifera* L., *Pyracantha* sp., *Parthenocissus* sp., *Rosa* sp.), mostly from Italy were inspected in the glasshouse and in the open space of garden centre on presence of *A. spiniferus* and the result was negative too. The other plant species in garden centre were also visually inspected and they were pest free. As with other whitefly species, adults of *A. spiniferus* are capable of limited flight, so the most important way of pest transmission between countries is a trade with planting material of citrus or other host species, or possibly of fruits (EPPO/CABI, 1997). Therefore, the origin of this alien species is still unknown, but it is assumed that the infection originated from imported plant material to this or some other garden centre in Croatia from Italy, where *A. spiniferus* was reported in 2008 (Porcelli, 2008). It is also possible that the pest was introduced in Croatia by direct import of infested plant material from Japan, where this species is present since 1928 (Muniappan et al., 2006). The expert

recommendation to the phytosanitary inspection was to eradicate the pest by burning of infested orange seedlings in order to prevent the insect spreading.

According to the Dubey and Ko (2012) identification key, the whitefly species *A. spiniferus* can be recognized by the following morphologic characters of the puparium: puparium black; glandular spines present on all the dorsal areas, apex of spines pointed, most of them reaching well beyond margin; operculum almost filling the orifice; venter without dense spinules; vasiform orifice cordate; abdominal submedian spines not uniform in size; margin toothed; seven to nine marginal teeth in 0,1 mm; female puparium with 30 pairs of dorsal spines, of which 11 pairs on submargin; all the submarginal spines placed singly (Figure 2).



Figure 2: The permanent microscopic slide of *A. spiniferus* pupal case (photo: M. Šimala)

According to EPPO/CABI (1997), the potential host range of *A. spiniferus* in the EPPO region would be essentially citrus, with some possibility of establishment on other woody plantation crops growing in the southern part of the region in climatic conditions suitable for the pest. The accidental introduction, acclimatization and spreading of this species in southern Italy is thus of concern to all other EPPO member states, especially Mediterranean countries. Thus, it presents a potential risk to citrus in Croatia, in particular to production of mandarin in Neretva river valley. That is why the Institute for Plant Protection plans to start the monitoring of a whitefly species *A. spiniferus* in Croatia in 2013.

4 CONCLUSIONS

1. The quarantine whitefly species *A. spiniferus* was reported for the first time in Croatia in May 2012 on ornamental potted orange seedlings from domestic production in one garden centre in Split.
2. Visual control of plants in the glasshouse and in the open space of garden centre, as well as in nursery owned by the same company, showed that the pest does not originate from nursery and has not spread from the orange seedlings to other plant species.
3. The origin of the infestation of this alien species is still unknown, but it is assumed that the infection originated from imported plant material from Italy or even from Japan.
4. The pest was eradicated by burning of infested orange plants.

5. Because *A. spiniferus* presents a potential risk to citrus in Croatia, especially to production of mandarin in Neretva river valley, the Institute for Plant Protection plans to start the monitoring of a pest in Croatia in 2013.

5 ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to M.G.M. Jansen from Plant Protection Service, Wageningen, The Netherlands, who confirmed the species identification.

6 REFERENCES

- Dubey, A.K. & Ko, C.C. 2012. Sexual dimorphism among species of *Aleurocanthus* Quaintance & Baker (Hemiptera: Aleyrodidae) in Taiwan, with one new species and an identification key. *Zootaxa*, 3177: 1-23.
- EPPO/CABI 1997. *Aleurocanthus spiniferus*. In Quarantine Pests for Europe, 2nd ed., CAB International, Wallingford: 21-24.
- Horvat, S., Železnjak, Ž., Lapaine, M. 2003. Vojni topografski-kartografski sustav Republike Hrvatske. Kartografija i geoinformacije, 2(2): 75-85.
- 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. 1996. Neotropical whiteflies of the subfamily Aleurodicinae established in the western Palaearctic (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Natural History*, 30: 1849-1859.
- Martin, J.H. 1999. The whitefly fauna of Australia (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). A taxonomic account and identification guide. Technical Paper, 38: 1-197.
- Martin, J.H. 2005. Whiteflies of Belize (Hemiptera: Aleyrodidae). Part 2-a review of the subfamily Aleyrodinae Westwood. *Zootaxa*, 1098: 1-116.
- Muniappan, R., Porea, M., Sengebau, F., Reddy, G.V.P. 2006. Orange Spiny Whitefly, *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance) (Homoptera: Aleyrodidae), and Its Parasitoids in the Republic of Palau. *Proc. Hawaiian Entomol. Soc.*, 38: 21-25.
- OEPP/EPPO 2002. Diagnostic protocols for regulated pests. *Aleurocanthus spiniferus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 32: 255-259.
- Porcelli, F. 2008. First record of *Aleurocanthus spiniferus* (Homoptera: Aleyrodidae) in Apulia, Southern Italy. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 38: 518-520.

***Thuja occidentalis* L. IS COMMONLY A HOST FOR CYPRESS JEWEL BEETLE (*Ovalisia festiva* L.) IN SLOVENIA**

Jaka RAZINGER¹, Metka ŽERJAV², Špela MODIČ³

^{1,2,3} Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

ABSTRACT

A significant drying and dying of white cedars (*Thuja occidentalis* L.) in an older hedge was observed in autumn 2010 in Ljubljana (Vič). When the branches were carefully examined, many were found to be hollow and full of channels filled with sawdust. In the channels pupae were discovered, from which blue-green beetles with a metallic sheen emerged after five days at 20°C. Beetles were morphologically analyzed and classified as Cypress Jewel Beetle (*Ovalisia festiva* L.). In April and May 2012 similar damage was observed in several gardens in Ljubljana (Trnovo, Bežigrad), Posavje (Žadovinec) and Prekmurje (Lendava). We conclude that the native beetle that normally feeds on junipers found a niche in the white cedars growing in permanent sites or in nurseries. This suggests a need for regular and professional monitoring of the pest. A possible control measure to slow the insect's spread is a selection of ornamental plants, well adapted to their growth conditions.

Keywords: DNA barcoding, Coleoptera, insect pests, hedges, *Thuja* sp.

359

IZVLEČEK

AMERIŠKI KLEK V ŽIVIH MEJAH JE POGOSTO GOSTITELJ JUŽNEGA BRINOVEGA KRASNIKA (*Ovalisia festiva* L.) V SLOVENIJI

Spomladi 2011 smo v Ljubljani pregledali Ameriške kleke (*Thuja occidentalis* L.) v starejši živi meji, ki so se sušili že nekaj let. Pri razrezu polsuhih vej smo opazili v lesu rove z žagovino. V izdolbinah smo našli bube, iz katerih so se pri temperaturi 20°C v laboratoriju po petih dneh izlegli zelenomodri hrošči s kovinskimi leskom in temnimi pikami na pokrovkah, dolgi približno 10 mm. Hrošče smo morfološko klasificirali in ugotovili, da je izvrtine povzročil južni brinov krasnik (JBK) (*Ovalisia (Palmar) festiva* L.). Pridobljeno sekvenco smo objavili na medmrežju (www.boldsystems.org). V letu 2012 smo v aprilu in maju opazili starejše kleke sorte Smaragd z enakimi poškodbami in ličinkami v lesu na več vrtovih v Ljubljani (Trnovo, Bežigrad), v Posavju (Žadovinec) in v Prekmurju (Lendava). Sklepamo, da JBK ogroža kleke na stalnem rastišču in v drevesnicah. Močno napadeni kleki se posušijo v celoti ali pa jih je zaradi slabega videza potrebno odstraniti. Možen ukrep za zmanjšanje škode je izbor okrasnih rastlin primernih za določeno rastišče.

Ključne besede: DNA črtno kodiranje, hrošči, škodljivci, *Thuja* sp., žive meje

1 INTRODUCTION

Thuja occidentalis L. has spread as ornamental plant for hedges in all parts of Slovenia regardless to climate and soil conditions. The prevailing cultivar is Smaragd. An older *Thuja*

¹ dr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ mag., prav tam

occidentalis hedge with the history of slow dying was inspected in Ljubljana in spring 2011. The tunnels with sawdust were observed in the wood of wilted branches and the chambers with pupae were found. The green-blue beetles with metallic shine, app. 10 mm long, with black spots on elytra, appeared after 5 days in laboratory at 20°C. By morphological classification the beetles which caused the injury of plants were identified as Cypress Jewel Beetle (CJB) *Ovalisia (Palmar) festiva* L.

Cypress jewel beetle is a native species which feeds mainly on Juniperus plants. *Thuja occidentalis*, probably weakened by environmental stress factors is an alternative host as it is reported also from some other parts of Europe. Plants which were heavily attacked were dying or had to be removed due to bad visual appearance. Neither the life cycle of Cypress Jewel beetle in our climate nor the control measures are known. Additionally we did not find a molecular barcode in the internet databases, to assist us with 'Classical' taxonomy.

'Classical' taxonomy is based on detailed morphological analysis of morphometric characteristics of biological specimens. However, as DNA sequencing has become increasingly reliable and affordable more DNA sequences have become available online. This data can be used to classify an unknown specimen in a process designated DNA barcoding. The objective of DNA barcoding is to use large-scale screening of one or a few reference genes in order to a), assign unknown individuals to species, and b), enhance discovery of new species (Moritz and Cicero, 2004). DNA barcoding is based on the premise that a short standardized sequence can distinguish individuals of a species because genetic variation between species exceeds that within species (Hajibabaei *et al.*, 2007).

The purpose of this research was a), to properly identify a potentially harmful pest of hedges and b), to provide the research community with DNA barcode sequence of this species.

360

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Pest monitoring and insect collection

After the first finding of CJB in 2011 more Thuja hedges with damaged plants were inspected in 2012. Branches with symptoms of wilting and browning were dissected and observed for tunnels, sawdust, exit holes, larvae or pupae. The pest was sampled in several locations in Ljubljana, Žadovinek pri Krškem and Lendava, Slovenia.

Several insects were deposited as voucher specimens in entomological collection of the Agricultural Institute of Slovenia and several were stored in -80°C freezer for subsequent DNA analyses.

2.2 Classical taxonomy

The insects were morphologically classified using guides by Harde *et al.* (2000) and White (1983). Additionally, two Coleoptera experts were consulted for their opinion regarding the classification.

2.3 DNA barcoding

DNA purification. The specimens were preserved at -80°C until DNA extraction. Beetle's left hind leg was removed for genomic DNA extraction using the NucleoMag extraction kit (Macherey-Nagel, Germany) and MagMAX Express Magnetic Particle Processor (Applied Biosystems). The volumes of reagents used were smaller than those used in the NucleoMag kit's instruction manual. The tissue was homogenized manually in a 1.5 ml Eppendorf tube using micro-pestle. The lysis buffer consisted of 10 µl of premixed proteinase K solution and 50 µl of T1 buffer. The lysate was transferred to the first well of the MagMAX cartridge, where additionally 10 µl of magnetic particles and 110 µl of MB2 buffer were added. 150 µl of MB3,

150 µl MB4 and 200 µl of MB5 were added to wells 2, 3 and 4, respectively. In the 5th well, 50 µl of MB6 (elution buffer) was added.

PCR conditions and sequencing. Partial cytochrome oxidase subunit I (COI) was amplified using forward primer LCO (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') and reverse primer HCO (5'-TAAACTTCAGGCTGACCAAAAAATCA-3') according to Folmer *et al.* (1994). The resulting PCR amplicon was checked on a 1.7% agarose gel, stained with ethidium bromide and visualized under UV light in Genegenius (Syngene). The amplicon was sequenced in Macrogen inc., Netherlands. The obtained sequence was deposited in Barcode of Life Database (www.boldsystems.org).

3 RESULTS, PRESENTATION OF THE PEST AND DISCUSSION

Different stages of injuries were usually observed in individual hedges and also on individual plants. Some plants were already dead. On dead branches or branches almost entirely brown tunnels with sawdust and exit openings originating from infestations in previous years were observed. In contrast, on live, but wilting and somewhat chlorotic branches, active larvae were found under the bark. Older symptomatic *Thuja sp. cv. Smaragd* plants with larvae in the wood were found in central Slovenia, Posavje and Prekmurje. The attack was also confirmed on four year old *Thuja occidentalis* plants for planting in a nursery in Ljubljana where larvae were found at the base of trunks.

Table 1: Sites with confirmed Cypress Jewel Beetle attack

Location	Date of inspection and sampling	Host plant	Estimated age of host plant
Ljubljana, Vič; private garden	26 May, 2011	<i>Thuja occidentalis</i> L., cv. Smaragd	>10 years
Ljubljana, Trnovo; private garden	6 April, 2012	<i>Thuja occidentalis</i> L., cv. Smaragd	>10 years
Ljubljana, Bežigrad; private garden	3 April, 2012	<i>Thuja occidentalis</i> L., cv. Smaragd	8-10 years
Žadovinek pri Krškem; private garden	16 May, 2012	<i>Thuja occidentalis</i> L., cv. Smaragd	>10 years
Lendava; public green aerea	25 July, 2012	<i>Thuja occidentalis</i> L.,	>10 years
Ljubljana; nursery	16 April, 2012	<i>Thuja occidentalis</i> L., cv. Smaragd	4 years

3.1 Presentation of the pest

The adult Cypress Jewel Beetle has an ovoid-shaped body, 6-12 mm long. The head is partly located under the prothorax. The eyes are rather large. Wingspan is about 8 to 12 mm. The short antennae have 11 articles. The general colour is metallic green with dark patches. The pronotum shows two patches located in small shallow lateral depressions. The elytrae also show dark patches from the base to the apex. They are longitudinally striated (Harde *et al.*, 2000). Larvae are 15-20 mm long, with a pronounced head which is wider than the abdominal segments. The head ends with strong maxillae. Larvae drill holes in branches and stems. They can attack healthy plants. Pupae are of similar size as imagos, ca. 8-12 mm in length and up to 6 mm in width (Figure 1).

3.2 Systematics

Ovalisia festiva (Linnaeus, 1767) beetle is commonly known as Cypress Jewel Beetle. Other scientific names are *Lamprodila festiva*, *Lampra festiva*, *Scintillatrix festiva*, *Palmar festiva* (Harde *et al.*, 2000) and *Poecilonota festiva* (Hellrigl, 2010). It belongs into order Coleoptera, family Buprestidae (White, 1983).

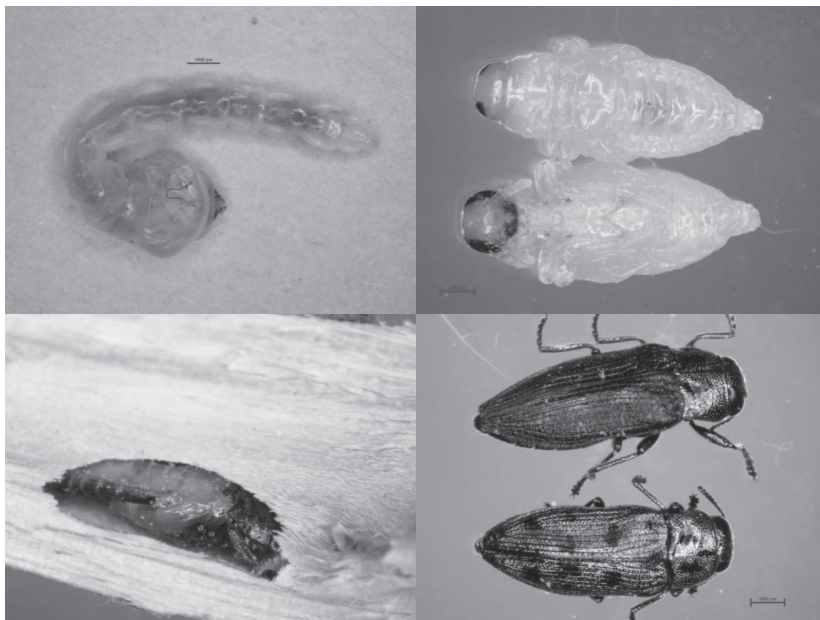


Figure 1: Larva, pupae and imagos of *Ovalisia festiva*.

3.3 Geographical distribution

The genus *Ovalisia* is spread in the Southern and Central Europe. North findings are known up to Württemberg, Germany. It can also be found in North Africa and is known to extend its range northwards (White, 1983). Hellrigl (2010) reports findings in south Tirol in junipers (*Juniperus communis*) dating already from 1863. Findings of the beetle are reported also from Switzerland and Italy (Sistiana gulf near Trieste; Hellrigl, 1972). It is hypothesized that the beetle extends its range northward due to global warming (Wermelinger, 2011).

3.4 Biology

The Cypress Jewel Beetles naturally occur in forests of junipers or cypresses but can also be found in artificial habitats such as hedgerows of *Thuja* sp. Adults can be observed from May to September, whereas larvae and pupae all year round. They breed in stressed, injured and dying trees, freshly fallen branches, and in stumps and trash after logging (AgForests Queensland, 2008). Adults are active during the hottest hours of the day. Just after mating, females lay their eggs in crevices in the bark of trunks or branches. The beetles' flight occurs from May to July (Harde *et al.*, 2000). The larvae first drill flat tunnels, filled with sawdust, between bark and sapwood. After overwintering, the larvae drill further, making bigger tunnels and galleries causing branches to die, or even causing the whole plant to die. Usually the larvae overwinter twice. In the second spring the larvae dig out a gallery just below or in

bark where it pupates. The adult beetles chew their way out using strong maxillae and make an oval exit hole of 2-4 mm (Figure 2). The whole life cycle takes from one to two years (Hellrigl, 1972) or even three years (Wermelinger, 2011).

3.5 Host plants and attack symptoms

Jewel beetle *Ovalisia (Palmar) festiva* (L., 1767) attacks mainly *Juniperus communis* L. (common juniper) in the Alps and the pre-Alpine regions. In southern Europe and in northern Africa it attacks *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L., as well as *Juniperus thurifera africana*. It can also attack other species from the family Cupressaceae, like *Thuja occidentalis* L. (

Figure 3), *Cupressus* sp., and *Chamaecyparis lawsoniana* (Murr.) Parl. (Hellrigl, 1972; Wermelinger, 2011).

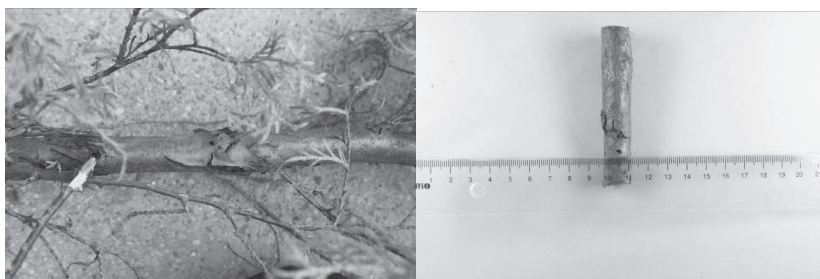


Figure 2: Holes produced by emerging beetles.



Figure 3: Severly infested *Thuja* sp. hedge in Lendava, Prekmurje, Slovenia 25th Julij, 2012.

Damage to trees and shrubs is caused by larvae feeding in the inner bark and outer sapwood. A few larvae cause minimal damage. When there are many larvae they cause extensive damage to the sapwood and the tree can ultimately be ring-barked. External signs of infestation can include: cracking and lifting bark; frass (powder) on the trunk or ground and in badly infested trees, crown dieback due to the beetle damage ringbarking the tree (AgForests Queensland, 2008). The larvae prefer smaller branches or stems with a diameter of up to 2-10 cm (Wermelinger, 2011).

The beetles' damage to the xylem reduces the mechanical integrity of the trunk and/or branches. Simultaneously the attacked plant's water conductance is disturbed and the leaf water potential decreases (Ueda and Shibata, 2005). The first symptoms of damage are chlorosis and leaf drying. When a branch or stem is severely infested with larvae it can dry

completely and die off. 2-4 mm exit holes can be observed on infested branches (Wermelinger, 2011).

3.6 Natural enemies

In our literature survey we did not find references of natural enemies of *O. festiva*, although there are some reports of Hymenopterans parasitizing beetles from f. Buprestidae. *Oobius agrili* was reported to parasitize emerald ash borer *Agrilus planipennis* (Duan *et al.*, 2011). *Sclerodermus harmandi* is a more non-specialized parasite of several families of beetles. It was reported to also parasitize the genus *Ovalisia* (Lim *et al.*, 2006).

3.7 Potential economic importance of *Ovalisia festiva* in Slovenia with conclusions

The predominant economic damage is foreseen on *Thuja* sp., a common conifer in Slovenia. Primarily *Thuja occidentalis* L., American Arborvitae, which is used for the planting of hedges and in cemeteries. *Thuja orientalis* L., Chinese Arborvitae, an invasive species in the western part of Slovenia, can also be attacked.

The climate conditions in Slovenia are very suitable for reproduction and development, especially hot and dry summers with little precipitation. Given the fact that we found no reports on effective natural enemies and there is an abundance of *Thuja* sp. hedges in Slovenia, we expect that the pest could greatly expand in the next few years and cause significant economic damage. Similar problems were reported for a weevil, *Phyllobius intrusus*, which was introduced to USA and later Norway through distribution of infected *Thuja* sp. hedge plants (Ødegaard and Berggren, 2010). Therefore, the authors of this paper believe that more emphasis should be put on proper selection of the hedge-plants.

Molecular barcoding in identifying specimens to a species level is a useful aid for taxonomic workflow however, it is not meant as a replacement for classical morphological taxonomic analysis. For example, when an unknown specimen does not return a close match to existing records in the barcode library, the barcode sequence does not qualify the unknown specimen for designation as a new species. Instead, such specimens are marked for thorough morphological analysis (Hajibabaei *et al.*, 2007). This was also the case in this investigation. The beetle's sequence was obtained and analyzed by bioinformatics software. When it was discovered that it does not closely match any known sequences, the beetle was thoroughly morphologically analyzed. After our own morphological classification and confirmation by independent experts, we deposited the obtained sequence in the Barcode of Life Database (www.boldsystems.org). Thus the research community benefitted by having another species genetically barcoded.

4 ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Dr. Božidar Drovenik and Andrej Kapla for their confirmation of the beetles' classification.

5 REFERENCES

- AgForests Queensland, 2008. Management & Forest Products Guide; White Cypress Native Forests & Woodlands, pp. 1-21.
- Duan, J.J., Bauer, L.S., Ulyshen, M.D., Gould, J.R., Van Driesche, R., 2011. Development of methods for the field evaluation of *Oobius agrili* (Hymenoptera: Encyrtidae) in North America, a newly introduced egg parasitoid of the emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae). *Biological Control*, 56: 170-174.

- Folmer, O, Black, M, Hoeh, W, Lutz, R, Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol.*, 3, 5: 294-299.
- Hajibabaei, M., Singer, G.A., Hebert, P.D., Hickey, D.A., 2007. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends Genet.*, 23: 167-172.
- Harde, K.W., Severa, F., Möhn, E., 2000. *Der Kosmos Käferführer: Die mitteleuropäischen Käfer.* Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co KG, Stuttgart, ISBN 3-440-06959-1.
- Hellrigl, K.G., 1972. Revision der westpaläarktischen Arten der Prachtkäfergattung *Lampra* LAC, (Col., Buprestidae). *Ann. Naturhistor. Mus. Wien*, 76: 649-708.
- Hellrigl, K.G., 2010. Faunistik der Prachtkäfer von Südtirol (Coleoptera: Buprestidae). *Forest Observer*, 5: 153–206.
- Lim, J., Lyu, D., Gwang-Sik-Choi, Jeong, Y.-J., Shin, S.-C., Lee, S., 2006. A Taxonomic Note on *Sclerodermas hamandi*, Ectoparasite of Stem and Wood Boring Insect Larvae (Hymenoptera: Chrysidoidea: Bethyloidea) in South Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 9:115-119.
- Moritz, C., Cicero, C., 2004. DNA barcoding: Promise and pitfalls. *PLoS Biol.*, 2, 10: e354.
- Ødegaard, F., Berggren, K. 2010. The first European records of the arborvitae weevil *Phyllobius intrusus* Kono, 1948 (Coleoptera, Curculionidae) in Norway. *Norwegian Journal of Entomology*, 57: 162–165.
- Ueda, M., Shibata, E., 2005. Water status of hinoki cypress, *Chamaecyparis obtusa*, attacked by secondary woodboring insects after typhoon strike. *J For Res*, 10: 243–246.
- Wermelinger, B., 2011. *Der Grüne Wacholder-Prachtkäfer. g'plus die Gärtner-Fachzeitschrift*, 3:30.
- White, R.E., 1983. *A field guide to the beetles of North America.* Houghton Mifflin Company, Boston. ISBN 0-395-31808-7: 368 str.

FIRST RECORDS OF THE RED PALM WEEVIL, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) AND THE PALM BORER, *Paysandisia archon* (Burmeister, 1880) IN CROATIA

Tatjana MASTEN MILEK¹, Mladen ŠIMALA²

¹ Croatian Centre for Agriculture, Food and Rural Affairs, Zagreb, Republic of Croatia

² Croatian Centre for Agriculture, Food and Rural Affairs, Institute for Plant Protection, Zagreb, Republic of Croatia

ABSTRACT

Red Palm Weevil – *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1889) and Palm Borer – *Paysandisia archon* (Burmeister, 1880) are one of the most important pests of the palm trees. They cause gradual decline of its host which results in their complete destruction. In Croatia, their most common hosts are: *Phoenix canariensis* (Canary Date Palm), *Trachycarpus fortunei* (Chusan Palm), *Washingtonia filifera* (Cotton Palm or California Fan Palm) and *Chamaerops humilis* (Mediterranean Dwarf Palm). It should be noted that most plants belonging to family Arecaceae present the potential host of these pests. In Croatia, Red Palm Weevil was first recorded on *P. canariensis* in August 2011 on the locality Turanj in Zadarska County, where there was no damage recorded (Masten Milek, Šimala, 2011, Masten Milek, Šimala, 2012a). It was caught using the feromone trap. In the same year, it was also recorded in Solaris near Šibenik, also on palm trees *P. canariensis*. Even then, significant damages were recorded. In 2012 this pest continued its further spreading, despite all the phytosanitary measures taken: in Šibensko-kninska County mostly in the Solaris area near Šibenik and it was additionally recorded in the area of Jadrija and Brodarica. In Opatija in Primorsko-goranska County, Red Palm Weevil was first recorded in 2012, also on *P. canariensis*. Palm Borer was first registered in Croatia in the area of Brnik near Split in Splitsko-dalmatinska County on palm trees *P. canariensis*, *T. fortunei* and *W. filifera* in September 2011 (Masten Milek, Šimala, 2012b). At that time, damages were also recorded. In 2012 the spreading continued in the area of Brnik near Split in Splitsko-dalmatinska County, and for the first time it was also recorded in the Kožino area near Zadar in Zadarska County. Situation in Kožino is alarming: this pest attacked most of the palm trees planted and disastrous damages were recorded by visual inspection.

Key words: Croatia, first records, *Paysandisia archon*, *Rhynchophorus ferrugineus*

1 INTRODUCTION

It is estimated that there are over one million palm trees planted in Croatia. Most of them can be found in the Mediterranean part of the country. Most common species are *Phoenix canariensis* (Canary Date Palm), *Trachycarpus fortunei* (Chusan Palm), *Washingtonia filifera* (Cotton palm or California Fan Palm) and *Chamaerops humilis* (Mediterranean dwarf palm).

¹ dr. sc., Svetošimunska 25, HR-10 000 Zagreb, Hrvatska; e-mail: tatjana.masten.milek@hcphs.hr

² dr. sc., Rim 98, HR-10 000 Zagreb, Hrvatska

Red Palm Weevil originates from South Asia and Melanesia, where it causes great damages on the Coconut palm. From there, it spread rapidly westward in the mid-eighties. In the EPPO region, it appeared in 1992 in Egypt. After that, in 1994 in Italy and Spain, in 1999 in Israel and Jordan, in 2005 in Turkey, in 2006 on Cyprus, Greece and in France, in 2008 in Morocco, in 2009 in Georgia and Slovenia and in 2011 in Croatia. In Asia, it is widespread. It was also registered in several places in Oceania.

The Palm Borer is a Neotropical species which originates from South America. In the EPPO region, it was first found in Spain in one nursery in Catalonia. After that, it was registered on several localities along the Mediterranean coast. In the same year, it was also discovered in France. Lately, the pest was also found in Italy. Three isolated cases were registered in Great Britain (2002, 2007 and 2008). In 2008 it was registered in Slovenia.

2 MATERIALS AND METHODS

The pest affects stems and growing points. It is very difficult to detect the Red Palm Weevil and Palm Borer in the early stages of infestation. Generally, they are detected only after the palm has been severely damaged. Survey of the Red Palm Weevil on palms in Croatia was carried out over a 4 year period (2009–2012) by visual inspections of potentially infested plants in the open field and in nurseries which import palms. The same was done for the Palm Borer since 2011. Careful observation may reveal the following signs which are indicative of the presence of the pest: holes in the crown or trunk from which chewed-up fibres are ejected withered bud/crown. Ferrugineol-based aggregation pheromone lures have been used for mass trapping of Red Palm Weevil adults (Faleiro & Chellapan, 1999).

3 RESULTS AND DISCUSSION

The Red Palm Weevil was first discovered in August 2011 in the Zadar County in the area of Turanj in pheromone lure on *P. canariensis* and after that in Šibenik-Knin County in the Šibenik area. In 2012 it continued to spread further in Šibenik-Knin County and it was registered for the first time in Primorsko-Goranska County in Opatija, also on *P. canariensis* (map 1) The Red Palm Weevil is expanding rapidly. In the coming years we can expect a lot of damage in Croatia.

The Palm Borer was first registered in September of 2011 in Split-Dalmatia County in the area of Split-Brnik on *P. canariensis*, *T. fotrunei* and *W. filifera*. In 2012 the Palm Borer continued to spread in Brnik near Split, and it was first recorded in Kožino near Zadar in Zadar County (Fig. 1). The situation is alarming in Kožino: pest has invaded most of the palm trees in the area, and visual inspection has registered catastrophic damage.

4 CONCLUSION

In 2011, two new quarantine pests of the Croatian entomo-fauna on palm trees were discovered: the Red Palm Weevil and the Palm Borer. Both are known to be extremely hazardous palm tree pests which, in most cases, cause a complete destruction of its host. The main problem with the spreading of these pests lies mainly in the trade of the planting material. Since Croatia does not have its own palm tree production, all the planting material is being imported mostly from Spain and Italy, countries in which these pests are widespread. Besides that, since both of these pests fly, the spreading occurs very fast. Based on the latest research conducted in Spain, palm trees can be saved if the control

measures are carried out at adequate timing and with the use of adequate plant protection products.



368

Figure 1: Distribution of Red Palm Weevil and Palm Borer in Croatia (2009 – 2012)

5 REFERENCES

- Faleiro, J. R., Chellapan, M. 1999. Attraction of *Rhynchophorus ferrugineus* to ferrugineol-based pheromone lures in coconut gardens. *Journal of Tropical Agriculture*, 37: 60–63.
- Masten Milek, T., Šimala, M. 2011. Prvi nalaz *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) – crvene palmine pipe u Hrvatskoj. *Glasilo biljne zaštite*, sv. 11, br. 6: 397–406.
- Masten Milek, T., Šimala, M. (2012a). Prvi nalaz palminog drvotoča (*Paysandisia archon*) u Hrvatskoj. *Glasilo biljne zaštite*, sv. 12, br. 3: 211–219.
- Masten Milek, T., Šimala, M. (2012b). Prvi nalaz *Rhynchophorus ferrugineus* i *Paysandisia archon* i mogućnosti sprječavanja devastacije palmi u Hrvatskoj. *Glasilo biljne zaštite*, 1/2- dodatak, sažetak.

MORPHOMETRIC AND MOLECULAR ANALYSIS OF POTATO CYST NEMATODES FROM SERBIA

Jasmina BAČIĆ¹, Barbara GERIČ STARE², Saša ŠIRCA³, Gregor UREK⁴

¹Agricultural Extension Service Institute Tamiš, Serbia

^{2,3,4}Agricultural Institute of Slovenia, Ljubljana

ABSTRACT

Potato cyst nematodes (PCN) *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* belong to the major potato parasites in temperate regions. These quarantine pests are regulated by EU directive 2007/33/EC. The morphological characters of these sibling species may overlap and molecular method of identification is needed in such cases. A precise identification is crucial for the phytosanitary system of every country including Serbia. *G. rostochiensis* and *G. pallida* are present in Serbia since 1999 and 2005 respectively. Both species were detected in soil samples originated from seed potato fields in three districts (Zlatibor, Mačva and Moravica) during official surveys. In accordance with phytosanitary measures for prevention of their further spreading, an official program for control of ware potato fields has been carried out for the presence of PCN in these quarantine districts since 2009. During 2009-2011, the PCN originated from ware potato fields from Serbia were analyzed by morphometric method and their identity was confirmed using real-time PCR method. The morphometrical characters of five PCN populations from locations of Gojna Gora (Moravica District), Tabanovići and Ponikve (Zlatibor District) were studied. Morphometric analyses of ten cysts and ten second-stage juveniles originated from these locations established the presence of *G. rostochiensis*. All morphological values from these different populations are very close. The characters that vary most are J2 body length, J2 tail length (including hyaline part of tail) and cyst distance-ventral basin to anus. Molecular analysis with real-time PCR identified all tested samples as *G. rostochiensis* and confirmed morphometrical identification.

Key words: *Globodera rostochiensis*, morphology, potato cyst nematodes, real-time PCR

1 INTRODUCTION

The potato cyst nematodes (PCN) *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens and *G. pallida* (Stone) Behrens are among the most dangerous potato pests worldwide. These species are listed as A2 quarantine organisms in Europe and regulated by EU directive 2007/33/EC on the control of potato cyst nematodes (EUR-lex, 2007). *G. rostochiensis* and *G. pallida* are morphologically and morphometrically closed related (Stone, 1973a, b). The morphological characters of these sibling species may overlap and molecular method of identification is needed in such cases. A precise identification is essential for the phytosanitary system of every country including Serbia. *G. rostochiensis* and *G. pallida* are present in Western Serbia since

¹ dr., Novoseljanski put 33, 26000 Pančevo, Serbia

² dr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

³ dr., prav tam

⁴ doc. dr., prav tam

1999 and 2005 respectively (Krnjaić *et al.*, 2002; Krnjaić *et al.*, 2006; Radivojević *et al.*, 2006). Both species were detected in soil samples originated from seed potato fields during official surveys. *G. rostochiensis* was found in three districts (Zlatibor, Mačva and Moravica) while *G. pallida* was reported only on location of Javor mountain in Zlatibor District. In accordance with phytosanitary measures for prevention of their further spreading, an official program for control of ware potato fields has been carried out for the presence of PCN in these quarantine districts since 2009. According to the official data of the Statistical Office of the Republic of Serbia, potatoes are grown on 75.449 ha in 2012 (Statistical Office of the Republic of Serbia, 2012). The PCN collected from ware potato fields in Serbia during 2009 - 2011 were analyzed by morphometric and molecular methods. The aim of this study was to identify these PCN populations unambiguously based on morphological characters and using real-time PCR method.

2 MATERIALS AND METHODS

Five PCN populations from Western Serbia from locations of two districts (Moravica and Zlatibor) were studied: Galjen-Gojna Gora, Ravni Gaj-Gojna Gora, Tabanovići-Bakionica Loret, Ponikve-Stapari and Ponikve-Mala Njiva. Morphological and morphometrical characters of ten cysts and ten second-stage juveniles (J2s) were analysed. The cysts were extracted by flotation method using Fenwick can. The second-stage juveniles were obtained from cysts pre-soaked in water by cutting the cysts and fixed in TAF (triethanolamine-formalin). Cyst vulval cones and J2s were mounted on glycerol and prepared as semi-permanent microscopic slides. The specimens were examined using a light microscopy Leica DM 1000 LED connected to a DFC 295 digital camera. Photomicrographs of the specimens were analysed with Leica Application Suite by interactive measurements and diagnostic characters were measured. The morphological identification of PCN was based on combination of J2 and cyst characters: body length, stylet length, tail and hyaline part of tail length, Granek's ratio (the distance from anus to the nearest edge of vulval basin divided by vulval basin diameter) and number of cuticular ridges between vulva and anus. Specimens were morphometrically identified on the basis of taxonomic keys (Fleming and Powers, 1998). DNA was extracted from 5-28 cysts of each of the studied populations collected in three consecutive years (2009-2011). The Promega Genomic DNA Wizard purification kit was used after a slight modification of the manufacturer's instructions. Molecular identification of PCN was performed with real-time PCR method and sybr green chemistry as described previously (Bačić *et al.*, 2008).

3 RESULTS AND DISCUSSION

Measurements of J2s and cysts of potato cyst nematodes from 5 locations from Serbia are listed in Table 1. Morphometrical analyses of ten cysts and ten J2 per population established the presence of *G. rostochiensis* in all soil samples. Morphometrics fitted within the ranges of previous *G. rostochiensis* reports and coincided with mean values of characteristics indicated in the literature (OEPP/EPP, 2009). The mean vulval basin diameter value from Ponikve-Mala Njiva population was slightly greater (19.03 μm) than the mean diameter value (< 19 μm) given in the taxonomic keys (Fleming and Powers, 1998). However, essential morphological and morphometrical characters, such as the juvenile stylet length, the stylet knobs anteriorly flattened to rounded, without forward projections, the number of the cuticular ridges and Granek's ratio indicated that the specimens were *G. rostochiensis*.

Table 1: Morphometrical characters of J2s and cysts of *Globodera rostochiensis* from 5 locations from Serbia (n=10). All measurements are in µm, presented as mean ± standard deviation with the range in parentheses.

	Galjen-Gojna Gora (Moravica District)	Ravni Gaj-Gojna Gora (Moravica District)	Tabanovići-Baktonica Loret (Zlatibor District)	Pomikve-Štapari (Zlatibor District)	Pomikve-Mala Njiva (Zlatibor District)
J2 body length	438,08 ± 35,44 (410,40-469,15)	444,87 ± 26,71 (404,36-480,63)	465,62 ± 14,32 (444,27-492,68)	456,85 ± 20,49 (413,22-478,14)	441,93 ± 24,31 (411,93-478,68)
J2 stylet length	20,81 ± 1,14 (19,14-22,18)	21,60 ± 1,12 (19,23-22,47)	21,92 ± 0,80 (20,05-22,74)	21,09 ± 0,84 (19,80-22,66)	21,88 ± 0,94 (20,04-22,87)
J2 tail length	45,25 ± 4,71 (37,05-51,15)	42,81 ± 2,92 (37,79-46,71)	39,99 ± 2,87 (37,69-47,18)	47,13 ± 5,50 (38,60-54,43)	45,35 ± 4,41 (37,69-51,40)
J2 hyaline part of tail	25,59 ± 2,97 (20,60-29,85)	26,24 ± 2,41 (21,11-29,80)	26,46 ± 2,66 (21,50-31,18)	25,73 ± 3,30 (20,60-30,00)	26,70 ± 3,15 (21,57-32,00)
Vulval basin diameter	18,59 ± 2,05 (14,52-22,10)	18,06 ± 1,07 (16,36-19,59)	17,74 ± 1,37 (15,09-19,52)	18,20 ± 2,38 (15,60-22,02)	19,03 ± 2,34 (15,02-22,14)
Distance-vulval basin to anus	63,10 ± 7,74 (50,50-75,15)	64,02 ± 8,62 (50,16-78,03)	72,00 ± 13,95 (48,95-86,19)	65,07 ± 11,11 (49,82-87,20)	70,71 ± 11,89 (49,13-85,72)
Granek's ratio	3,45 ± 0,71 (2,52-4,84)	3,55 ± 0,59 (2,72-4,76)	4,03 ± 0,64 (2,86-4,78)	3,63 ± 0,87 (2,59-5,58)	3,78 ± 0,89 (2,41-5,34)
No. of cuticular ridges	20,80 ± 3,29 (16-27)	22,70 ± 3,02 (18-27)	23,10 ± 0,64 (19-28)	20,70 ± 2,11 (17-24)	24,20 ± 3,25 (18-28)

All morphological values from the analysed populations were very close. The characters that vary most are J2 body length, J2 tail length (including hyaline part of tail) and cyst distance-vulval basin to anus.

On average, population from Galjen-Gojna Gora have the shortest J2s (438,08 µm) with the lowest stylet (20,81 µm). The longest J2s are from Tabanovići-Bakionica Loret (465,62 µm). The specimens from this population have the highest stylet (21,92 µm) and the shortest tail (39,99 µm). On average, the J2s from Ponikve-Stapari have the longest tail (47,13 µm). As for the morphometrics of cysts, the specimens from Galjen-Gojna Gora population have the lowest mean value of Granek's ratio (3,45) while the specimens from Tabanovići-Bakionica Loret have the highest value (4,03). Finally, the specimens from Ponikve-Stapari have the lowest mean number of cuticular ridges between vulva-anus (20,70) and the specimens from Ponikve-Mala Njiva have the highest mean value (24,20).

Molecular identification with real-time PCR determined all samples from five locations as *G. rostochiensis*. The peak of dissociation curve in the range of 86.7 to 87.1°C indicated the presence of *G. rostochiensis*. All samples tested positive for *G. rostochiensis* and mixed PCN populations were not determined.

4 CONCLUSIONS

The correct and rapid identification of PCN is essential for its control. This can be achieved with combining morphological and molecular based methods of identification. With this approach all five populations from Western Serbia were identified as *G. rostochiensis*.

5 REFERENCES

- Bačić, J., Gerić Stare B., Širca S., Urek, G. 2008. Analyses of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* from Serbia by morphometrics and real-time PCR. *Russian Journal of Nematology*, 16, 1: 63-65.
- EUR-lex. 2007. EUR-lex Access to European Union Law-Council Directive 2007/33/EC of 11 June 2007 on the control of potato cyst nematodes and repealing Directive 69/465/EEC. <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32007L0033:en:NOT>.
- Fleming, C.C., Powers, T.O. 1998. Potato cyst nematode diagnostics: morphology, differential hosts and biochemical techniques. In: Marks R.J. and Brodie B.B. (eds.) *Potato Cyst Nematodes-Biology, Distribution, Control*. CAB International, Wallingford (GB): 95-99.
- Krnjaić, Đ., Lamberti, F., Krnjaić, S., Bačić, J., Čalić, R. 2002. First record of the potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis*) in Yugoslavia. *Nematologica Mediterranea*, 30: 11-12.
- Krnjaić, Đ., Oro, V., Gladović, S., Trkulja, N., Ščekić, D., Kecović, V. 2006. New records of the potato cyst nematodes in Serbia. *Zaštita Bilja / Plant Protection*, 53 (4), 243: 147-156.
- OEPP/EPPO 2009. *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* PM 7/40 (2). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 39: 354-368.
- Radiojević, M., Krnjaić, Đ., Grujić, N., Oro, V., Gladović, S., Madani, M. 2006. The first record of potato cyst nematode *Globodera pallida* (Stone, 1973) from Serbia. In: *Programme and Abstracts of 58th International Symposium on Crop protection, 23rd May 2006, Ghent, Belgium, 2006*: 203.
- Statistical Office of the Republic of Serbia. 2012. Areas: agriculture and fishery: production of late crops, fruits and grapes: potatoes: harvested area, ha. <http://webzrs.stat.gov.rs/WebSite/Public/ReportResultView.aspx?rptKey=indId%3d13011IND01%2635%3d6%2c7%2c8%262%3d%23Last%231%2639%3d03000%2c07000%2c08000%2c11000%2c12000%2c13000%2c19000%2c29000%2c31000%2c33000%266%3d1%2c2%2c3%26sAreaId%3d13011%26dType%3dName%26lType%3dEnglish>
- Stone, A.R. 1973a. CIH Description of Plant-Parasitic Nematodes No.16 *Globodera rostochiensis*. CAB International, Wallingford (GB), cited in: OEPP/EPPO 2009. *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* PM 7/40 (2). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 39: 356 pp.
- Stone, A.R. 1973b. CIH Description of Plant-Parasitic Nematodes No. 15 *Globodera pallida*. CAB International, Wallingford (GB), cited in: OEPP/EPPO 2009. *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* PM 7/40 (2). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 39: 356 pp.

**VPLIV BAKTERIJE *Agrobacterium tumefaciens* NA VSTOP LIČINK OGORČICE
Meloidogyne ethiopica V KORENINE GOSTITELJSKE RASTLINE *in vitro***

Janja LAMOVŠEK¹, Barbara GERIČ STARE², Gregor UREK³

^{1,2,3} Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

V rizosferi prihaja do številnih medsebojnih vplivov med različnimi organizmi. Zanimal nas je odnos med bakterijo *Agrobacterium tumefaciens*, povzročiteljico raka koreninskega vratu, in rastlinsko parazitsko ogorčico *Meloidogyne ethiopica*. Vpliv *A. tumefaciens* na vstop drugostopenjskih ličink (J2) *M. ethiopica* v korenino je bil ovrednoten *in vitro* na gostiteljski rastlini *Arabidopsis thaliana* s tehniko ločenih korenin. Zastopanost *A. tumefaciens* na eni strani korenine ni vplivala na vstop ličink *M. ethiopica* na nasprotni strani korenine. Vstop ličink J2 je bil slabši ob zastopanosti *A. tumefaciens* na isti strani korenine, vendar le pri inokulumu 100 ličink na korenino. Predvidevamo, da zastopanost *A. tumefaciens* otežuje vstop ličinkam *M. ethiopica* v gostiteljsko rastlino zaradi nastanka biofilma okoli korenine. Zmanjšano razmnoževanje ogorčice ob zastopanosti *A. tumefaciens* je pokazal tudi lončni poskus na paradižniku. Izbrana *in vitro* metoda se je izkazala kot dober sistem za hitre študije medsebojnih vplivov med omenjenimi organizmi, saj so nam rezultati takšnih hitrih študij lahko v pomoč pri zasnovi dolgotrajnejših lončnih poskusov.

373

Ključne besede: *Agrobacterium tumefaciens*, *in vitro*, medsebojni vpliv, *Meloidogyne ethiopica*

ABSTRACT

**PENETRATION OF *Meloidogyne ethiopica* JUVENILES INTO HOST PLANT ROOTS
AFFECTED BY *Agrobacterium tumefaciens in vitro***

Rhizosphere presents a place of numerous interactions between various organisms. We studied interaction between the crown gall bacterium *Agrobacterium tumefaciens* and root knot nematode *Meloidogyne ethiopica*. The effect of *A. tumefaciens* on penetration of *M. ethiopica* second-stage juveniles (J2) into plant host roots was assessed on the host plant *Arabidopsis thaliana* with *in vitro* split root technique. The presence of *A. tumefaciens* on one side of the split root had no effect on J2 penetration on the opposite split root. A significant decrease in J2 penetration was observed when *A. tumefaciens* was present on the same side of the roots, but only in treatment with 100 larvae per root. Penetration of J2 larvae may be hindered due to biofilm formation on the plant roots by *A. tumefaciens*. Reduced reproduction of *M. ethiopica* was shown also on tomato co-infected with *A. tumefaciens* in a pot trial. The applied *in vitro* method proved as an excellent choice for short-term interaction studies between the studied organisms, as it provides additional information useful in designing long-term pot trials.

Key words: *Agrobacterium tumefaciens*, interaction, *in vitro*, *Meloidogyne ethiopica*

¹ univ. dipl. mikrobiol., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana, e-mail: janja.lamovsek@kis.si

² dr., univ. dipl. biol., prav tam

³ doc. dr., prav tam

1 UVOD

Rizosfera je okolje, kjer prihajajo v stik različni organizmi. Kakšen medsebojni odnos bodo ti razvili, je odvisno od ekološke niše ter vira prehrane. Bakterija *Agrobacterium tumefaciens* in ogorčica *Meloidogyne ethiopica* spadata v skupino ekonomsko najpomembnejših škodljivih organizmov v kmetijstvu. Oba rodova povzročita hipertrofijo rastlinskega tkiva, a preko različnih mehanizmov. Patogenost bakterije *A. tumefaciens* je pogojena z zastopanostjo plazmida Ti (ang. tumor-inducing) z zapisom za tumorigenost, kateri se prenese in vgradi v genom rastlinske celice. Izražanje genov patogenosti povzroči nenadzorovano delitev rastlinske celice, kar opazimo kot tumor. Navadno tumor nastane ob koreninskem vratu, lahko pa nastane tudi na koreninah. Agrobakterije vstopijo in vgradijo patogene gene po prepoznavi signala, ki ga oddaja poškodovano rastlinsko tkivo. Znano je, da lahko agrobakterije vstopajo skozi rane nastale ob prehranjevanju fitoparazitskih ogorčic (Karimi in sod., 2000). Ogorčice koreninskih šišek (*Meloidogyne* sp.) so obligatni paraziti, ki na koreninah številnih rastlinskih vrst povzročajo značilne odebelitve imenovane šiške. Šiška nastane, ko ličinka druge razvojne stopnje (J2) po vstopu v korenino s svojimi žleznimi izločki vzpodbudi nastanek prehranjevalnega mesta v obliki večjedrne rastlinske celice. Tako agrobakterije kot ogorčice koreninskih šišek vplivajo na transport vode in hranil od korenin do poganjkov (Veselov in sod., 2003; Strajnar in sod., 2012), kar lahko privede do propada rastline.

Razširjenost *A. tumefaciens* smo v Sloveniji dokazali na različnih kmetijskih zemljiščih (Lamovšek in sod., 2011), zastopanost vrste *M. ethiopica* pa smo v Evropi prvič zabeležili prav na slovenskih tleh (Širca in sod., 2004). *M. ethiopica* je tropska ogorčica, ki je sposobna preživeti tudi v zmernih podnebnih razmerah (Strajnar in sod., 2011). Njeno zastopanost so v Evropi pred kratkim potrdili tudi v Grčiji in Turčiji (Conceição in sod., 2012; Aydinli in sod., 2013).

Za nastanek bolezni morajo bakterije oz. ogorčice vstopiti v korenino. Z *in vitro* poskusom smo želeli oceniti vpliv patogene bakterije *A. tumefaciens* na vstop ličink *M. ethiopica* v korenine navadnega repnjakovca *Arabidopsis thaliana*.

2 MATERIALI IN METODE

Za izvedbo *in vitro* poskusa smo uporabili tehniko ločenih korenin. Zasnova poskusa je razvidna iz preglednice 1. Vsako obravnavanje smo naredili v šestih ponovitvah.

Semena *A. thaliana* smo sterilizirali v 1 % NaOCl in nakalili na modificiranem gojišču KNOP (Sijmons in sod., 1991) v temi. Rast stranskih korenin smo stimulirali tretji dan po kalitvi tako, da smo s skalpelom odrezali vrh glavne korenine. Plošče smo inkubirali na svetlobi (14 h) v rastni komori pri povprečni dnevni temperaturi 23 °C. Deveti dan smo rastline prestavili na KNOP gojišče v ploščah s tremi predelki tako, da smo fizično ločili zeleni del in oba lateralno razvita dela korenine. Plošče smo zaščitili z ovojnim trakom in inkubirali v rastni komori v že omenjenih razmerah. Po sedmih dneh smo rastlinam dodali ličinke J2 ogorčic *M. ethiopica* in / ali bakterije *A. tumefaciens*.

Jajčeca ogorčic *M. ethiopica* smo pridobili s korenin okuženega paradižnika po Hussey in Barker-jevi metodi (Hussey in Barker, 1973). Ličinke J2 smo po izleganju v sterilni vodi površinsko sterilizirali s tri-minutnim namakanjem v 0,5 % HgCl₂. Nato smo ličinke trikrat sprali v sterilni deionizirani vodi na 20 µm situ. Inokulum z ličinkami J2 smo pripravili v sterilni raztopini Gelrite®. Želatinasta struktura pripravka Gelrite preprečuje prehitro usedanje ličink in omogoči pripravo enakomerne suspenzije ličink.

Patogeni sev *A. tumefaciens* (slovenski izolat 06-424-7) smo namnožili na ploščah z gojiščem King's B. Suspenzijo z 80 % prosojnostjo določeno z tubidimetrom (Biolog, ZDA) (okoli 10⁸ CFU/ml) smo pripravili iz 24 h starih kolonij v sterilni deionizirani vodi in inokulum pripravili v raztopini Gelrite®.

Tri tedne po inokulaciji obeh organizmov smo korenine obarvali s fuksinom (Byrd in sod., 1983) in pod lečo prešteli ličinke, ki so vstopile v korenino. Podatke o številu ličink v korenini smo statistično ovrednotili s statističnim programom R (v.3.0.0.) (R Development, 2008) s paketoma Rcmdr (v. 1.9-6) in agricolae (v. 1.1-4). Razlike med obravnavanji smo ovrednotili z analizo variance (ANOVA) in preizkusom mnogoterih primerjav (LSD) pri $P \leq 0,05$.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Rezultati *in vitro* študije nakazujejo na antagonističen vpliv bakterij *A. tumefaciens* na vstop ličink ogorčic koreninskih šišk *M. ethiopica*. Vstop ličink *M. ethiopica* v korenine je bil slabši, kadar so bile na površju hkrati tudi bakterije (preglednica 1: obravnavanji III in VI). Predvidevamo, da biofilm oz. sluz (zunajcelični polisaharidi), ki jo bakterija tvori na površini korenine, otežuje premikanje ličink, kar se kaže v izrazito zmanjšanem vstopu. Rezultati našega lončnega poskusa na koreninah paradižnika so pokazali 2,5-krat manjše razmnoževanje ogorčic ob zastopanosti agrobakterij po 45-ih dneh inkubacije (rezultati niso prikazani).

Preglednica 1. Vpliv zastopanosti bakterij *A. tumefaciens* na vstop ličink J2 *M. ethiopica* v korenine *A. thaliana* *in vitro*.

Obravnavanje	Inokulum		Št. <i>M. ethiopica</i> v korenini	Delež <i>M. ethiopica</i> v korenini (%)
	1. predelek	2. predelek		
I	100 J2 <i>M. ethiopica</i>	/	3,0 ± 0,8 <i>b</i>	3,0 ± 0,8 <i>bc</i>
II	100 J2 <i>M. ethiopica</i>	100 CFU <i>A. tumefaciens</i>	2,8 ± 0,8 <i>b</i>	2,8 ± 0,8 <i>bc</i>
III	100 J2 <i>M. ethiopica</i> +10 CFU <i>A. tumefaciens</i>	/	0,0 ± 0,0 <i>a</i>	0,0 ± 0,0 <i>c</i>
IV	20 J2 <i>M. ethiopica</i>	/	2,8 ± 0,7 <i>b</i>	13,8 ± 3,5 <i>a</i>
V	20 J2 <i>M. ethiopica</i>	100 CFU <i>A. tumefaciens</i>	2,8 ± 1,3 <i>b</i>	14,2 ± 6,6 <i>a</i>
VI	20 J2 <i>M. ethiopica</i> + 10 CFU <i>A. tumefaciens</i>	/	1,6 ± 0,6 <i>b</i>	8,0 ± 2,7 <i>ab</i>

Črke za številom in deležem ličink (a-c) v stolpcih prikazujejo statistično značilne razlike med obravnavanji (LSD test, $p \leq 0,05$). Enake črke pripadajo obravnavanjem, med katerimi ni statistično značilnih razlik.

Za uspešen vstop ličink J2 je pomembna začetna velikost populacije, ki ne sme preseči kritične gostote v *in vitro* sistemu. Izkazalo se je, da je 100 ličink nanesenih na polovico korenin preveč, kar se kaže v zmanjšanem deležu ličink, ki vstopijo v korenino pri visokem inokulumu ličink. Ob večjem inokulumu ličink smo opazili tudi več raztrganih koreninskih vršičkov, najverjetneje kot posledico tekmovanja med ličinkami.

Zastopanost bakterij na koreninah ni vplivala na vstop ličink *M. ethiopica*, če organizma nista prišla v neposreden stik (preglednica 1: obravnavanji II in V). Sklepamo, da zastopanost bakterije na eni strani korenine ne izzove v rastlini systemskega odziva, ki bi omejeval vstop ličnik *M. ethiopica* na nasprotni strani.

Korenine *A. thaliana* so tanke in prosojne, in kot take ustrezne za opazovanje vstopa ličink ogorčic. Vstop ličinke v korenino je viden že tretji dan po inokulaciji kot zadebelitev na mestu, kjer si ogorčica ustvari prehranjevalno mesto (večjedrna celica). Po enem tednu ličinka ni več vidna zaradi hipertrofije tkiva. Število ogorčic v korenini po tretjem dnevu in po treh

tednih se ni razlikovalo (podatki niso prikazani). Z barvanjem smo se prepričali, da je v vsaki šiški le ena ličinka *M. ethiopica*, četudi so se šiške po velikosti razlikovale.

Bakterijski sev *A. tumefaciens* 06-424-7 povzroča tumorje na gostiteljskih rastlinah, vendar tumorjev v našem *in vitro* poskusu nismo opazili. Znano je, da je nastanek tumorja odvisen od gostote bakterij, ki mora doseči kritično maso, da bakterije prenesejo in vgradijo T-DNA s plazmida Ti v rastlinski genom. Čeprav je bila dodana koncentracija bakterij sprva nizka (preglednica 1), se je gostota hitro dvignila zaradi rasti bakterij na gojišču. Po enem tednu so bakterije v celoti poselile korenino. Sev po treh tednih na koreninah ni izgubil patogenosti, saj je po izolaciji s korenin in inokulaciji na testne rastline (paradižnik, sončnica in kalanhoja) zopet povzročil nastanek tumorjev. Čeprav sta bila gostota bakterij in čas zastopanosti ugodna za nastanek tumorjev, pa so morda drugi pogoji v *in vitro* sistemu onemogočili nastanek tumorjev.

4 SKLEPI

Antagonistični vpliv bakterij *A. tumefaciens* na vstop ogorčic *M. ethiopica* v rastlinsko korenino v našem *in vitro* sistemu temelji na fizični prepreki, ki jo ustvari bakterijski biofilm. Menimo, da je izbrana *in vitro* metoda bolj primerna za študije medsebojnih odnosov med glivami in ogorčicami kot bakterijami in ogorčicami. Zaradi narave večine bakterijskih sevov, kot sta hitra rast na gojišču in proizvodnja zunajceličnih polisaharidov, izbrana metoda ne more nadomestiti lončnih poskusov. Struktura biofilma bakterij na koreninah v naravnem okolju ter v *in vitro* pogojih se razlikuje. Agrobakterije v naravi redko tvorijo tolikšne količine sluzi kot na gojiščih, saj je vir sladkorjev v naravi običajno omejen, v gojišču pa prosto dostopen v večjih količinah. Kljub temu se je izbrana *in vitro* metoda izkazala kot dober sistem za hitre študije odnosov med omenjenimi organizmi, saj so nam rezultati takšnih hitrih študij lahko v pomoč pri zasnovi dolgotrajnejših lončnih poskusov.

5 ZAHVALA

Za finančno pomoč se zahvaljujemo ARRS (P4-0133).

6 LITERATURA

- Aydinli, G., Mennan, S., Devran, Z., Širca, S., Urek, G. 2013. First report of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica* on tomato and cucumber in Turkey. Plant Disease (sprejeto v objavo, doi: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-01-13-0019-PDN>).
- Byrd, D.W. Jr, Kirkpatrick, T., Barker, K.R. 1983. An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. Journal of Nematology 15:142-143.
- Conceição, I.L., Tzortzakakis, E.A., Gomes, P., Abrantes, I., da Cunha, M.J. 2012. Detection of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica* in Greece. European Journal of Plant Pathology, 134, 3: 451-457.
- Hussey, R.S., Barker, K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique, Plant Disease Reporter ,57: 1025-1028.
- Karimi, M., Van Montagu, M., Gheysen, G. 2000. Nematodes as vectors to introduce *Agrobacterium* into plant roots. Molecular Plant Pathology, 1,6: 383-387.
- Lamovšek, J., Gerič Stare, B., Urek, G. 2011. Occurrence of the bacteria *Agrobacterium tumefaciens* in Slovenian soil samples. V: Janežič, S., Benčina, M., Rupnik, M., Gradišar, H. (ur.) 9th Congress of the Slovenian Biochemical Society [also] 5th Congress of the Slovenian Microbiological Society with International Participation, Maribor, 12th – 15th October 2011. Abstract book. Maribor: Zavod za zdravstveno varstvo: 235.
- Sijmons, P.C., Grundler, F.M.W., von Mende, S., Burrows, P.R., Wyss, U. 1991. *Arabidopsis thaliana* as a new model host for plant parasitic nematodes. Plant Journal, 1: 245–254.
- Strajnar, P., Širca, S., Knapič, M., Urek, G. 2011. Effect of Slovenian climatic conditions on the development and survival of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica*. European Journal of Plant Pathology, 129 (1): 81-88.

- Strajnar, P., Širca, S., Urek, G., Šircelj, H., Železnik, P., Vodnik, D. 2012. Effect of *Meloidogyne ethiopica* parasitism on water management and physiological stress in tomato. *European Journal of Plant Pathology*, 132: 49-57.
- Širca, S., Urek, G., Karssen, G. 2004. First report of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica* on tomato in Slovenia. *Plant Disease*, 88: 680.
- Veselo, D., Langhans, M., Hartung, W., Aloni, R., Feussner, I., Götz, C., Veselova, S., Schlomski, S., Dickler C., Bächmann, K., Ullrich, C.I. 2003. Development of *Agrobacterium tumefaciens* C58-induced plant tumors and impact on host shoots are controlled by a cascade of jasmonic acid, auxin, cytokinin, ethylene, and abscisic acid. *Planta*, 216: 512-522.
- Wyss, U., Grundler, F.M.V., Münch, A. 1992. The parasitic behaviour of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita* in roots of *Arabidopsis thaliana*. *Nematologica*, 38: 98-111.
- R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

MORFOLOŠKE IN FIZIOLOŠKE SPREMEMBE PRI PARADIŽNIKU PO NAPADU OGORČICE *Meloidogyne ethiopica*

Polona STRAJNAR¹, Saša ŠIRCA², Dominik VODNIK³, Barbara GERIČ STARE⁴,
Gregor UREK⁵

^{1,2,4,5} Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

³ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

IZVLEČEK

Ogorčice *Meloidogyne ethiopica* se hranijo in razmnožujejo v koreninah rastlin, na katerih posledično povzročajo nastanek koreninskih šišč. Poškodbe, ki jih povzročajo na rastlinah se odražajo v spremenjenih fizioloških procesih v rastlini in so odvisne od same velikost populacije ogorčic in vrste gostiteljske rastline. V raziskavi smo vrednotili hidravlično prevodnost korenin in vodni potencial v listih ter morfološke spremembe na koreninah paradižnika po napadu prve in druge generacije ogorčic *M. ethiopica* (74 DPI in 102 DPI). Rastline so bile izpostavljene dvema stopnjama inokuluma jajčec (10 oz. 50 jajčec na 1 cm³ rastnega medija). Analiza je pokazala, da napad ogorčic povzroči morfološke spremembe koreninskega sistema, spremembe pa so se z drugim rodod ogorčic tudi povečale. Delež drobnih oz. debelih korenin je imel velik vpliv na meritve hidravlične prevodnosti korenin ter na vodni potencial v listih, medtem ko število rastihi vršičkov na te meritve ni imelo vpliva. Velikost populacije ogorčic in čas napada sta vplivala na dolžino celotnega koreninskega sistema; z večanjem populacije in daljšim časom napada se je dolžina celotnega koreninskega sistema zmanjšala.

Ključne besede: ogorčice koreninskih šišč, morfologija korenin, hidravlična prevodnost korenin, vodni potencial listov

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHANGES IN TOMATO AFTER *Meloidogyne ethiopica* NEMATODE INFESTATION

The root knot nematodes *Meloidogyne ethiopica* feed and reproduce on the plant roots, which consequently leads to the formation of the root galls. The population size as well as the type of the host plants influences the damage on the plants, which manifests itself as changes in the physiological processes in plants. We evaluated the hydraulic conductivity of the roots, leaf water potential and morphological changes of the roots after the infestation with the first and the second generation of *M. ethiopica* (74 DPI and 102 DPI). The plants were inoculated with two nematode inoculum densities at 10 and 50 eggs per 1 cm³ of the growth medium. The analysis showed that the nematode infestation induces morphological changes of the root system and these changes intensified with the second nematode generation. We showed that the portion of the fine and course roots has a major influence on the hydraulic conductivity and the water potential in leaves, while the number of the root tips had no influence on these measurements. The nematodes population density of and the time

¹ dr., univ. dipl. inž. agr., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana; e-naslov: polona.strajnar@kis.si

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

³ red. prof. dr., univ. dipl. biol., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

⁴ dr., univ. dipl. biol., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

⁵ doc. dr., univ. dipl. inž. agr., prav tam

of infestation influenced the length of the whole root system; higher nematode density and longer infestation time reduced the length of the whole root system.

Key words: root knot nematode, root morphology, root hydraulic conductivity, leaf water potential

1 UVOD

Ogorčice koreninskih šišk uvrščamo med obligatne rastlinske endoparazite in so med rastlinsko parazitskimi ogorčicami gospodarsko najbolj pomembna skupina škodljivcev (Karssen in Moens, 2006). Na nadzemskem delu rastlin povzročajo napad ogorčic neznačilna znamenja, saj le ta spominjajo na znamenja, ki jih na rastlinah povzročijo nekateri biotični ali abiotični dejavniki. Nasprotno pa napad ogorčic na podzemnem delu rastlin povzročajo značilne poškodbe, t.i. šiške. Zadebelitve na koreninah oz. šiške so pravzaprav mesta, kjer se ogorčice prehranjujejo in posledično ustvarjajo gigantske – večjedrne celice, v katerih potekajo celične delitve brez faze citokineze. V gigantskih celicah se celična stena povečuje, kar omogoča povečan vstop vode in raztopljenih metabolitov iz ksilema (Jones in Payne, 1978). Zmanjšane zaloge vode v rastlini vplivajo tako na fiziološke, kot tudi na biokemične procese v rastlini, npr. na fotosintezo, dihanje, prevajanje ionov z vodo, stopnjo zaloge hranil, vsebnost rastlinskih pigmentov itd. (Jaleel in sod., 2008, 2009).

V raziskavi smo preučili povezavo med morfološkimi spremembami na koreninah (analiza površine in dolžine celotnega koreninskega sistema), ki nastanejo kot posledica napada prvega in drugega rodu ogorčic *M. ethiopica*, z meritvami hidravlične prevodnosti korenin ter vodnega potenciala v listih.

2 MATERIAL IN METODE DE LA

2.1 Priprava jajčec *M. ethiopica* za inokulacijo

V rastlinjaku smo na paradižniku cv. Volovsko srce namnožili ogorčice vrste *M. ethiopica*, katere populacija izvira iz Slovenije (Širca in sod., 2004). Jajčeca za inokulacijo smo pripravili po Hussey in Barker-jevi metodi (1973), katera smo nadalje očistili po prirejeni metodi McClur-ja in sod. (1973).

2.2 Lončni poskus

Poskus je potekal na prostem pod pokritim prostorom, od maja do avgusta na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Povprečna temperatura zraka v času poskusa je bila 20,6 °C (vir: ARSO). Poskus smo izvedli na paradižniku cv. Volovsko srce, kateri se je izkazal za odličnega gostitelja ogorčic *M. ethiopica* (Strajnar in sod., 2011). Paradižnike smo posadili v 5 l lonce, katere smo napolnili z mešanico kremenčevega peska (0,25-1 mm) in ekspanzirane gline (1-4 mm) v razmerju 3:1. Rastline smo po potrebi zalivali s hidroponskimi gnojili Flora Micro (5-0-1), Flora Bloom (0-5-4) in Flora Gro (3-1-7) po navodilih proizvajalca (General Hydroponics Europe). Dva meseca stare paradižnike smo okužili s 50 000 jajčeci na lonec oz. 250 000 jajčeci na lonec. Na obravnavanju smo imeli deset ponovitev in kontrolo. Vstop prvega ter drugega rodu ogorčic v korenino oz. čas vrednotenja smo določili na podlagi razvojne krivulje, ki opisuje dolžino razvojnega kroga vrste *M. ethiopica* pri določeni temperaturi (Strajnar in sod., 2011).

2.3 Morfologija korenin

Dolžino in površino korenin ter število rastnih vršičkov smo merili 74 in 102 dan po inokulaciji z jajčeci *M. ethiopica*. Koreninski sistem smo skenirali z optičnim čitalcem Epson Perfection

V700 photo. S programom WinRHIZO (v2002c, Régent Instruments Inc.) smo koreninski sistem analizirali po treh debelinskih razredih; razred drobnih korenin (do premera korenin 0,5 mm), razred srednjih korenin (od 0,5 do 1,5 mm) ter razred debelih korenin (več kot 1,5 mm).

2.4 Hidravlična prevodnost korenin ter vodni potencial v listih

Hidravlično prevodnost korenin smo merili na treh koreninah po obravnavanju. Rastlino paradižnika smo previdno odstranili iz mešanice peska in glinopora, katero smo nadalje rahlo otresli in postavili v tlačno komoro. Steblo paradižnika smo odrezali 10 cm nad koreninskim vratom iz katerega smo nato pri tlaku 0,2 MPa 5 minut pobirali ksilemski sok. Hidravlično prevodnost smo izrazili kot težo ksilemskega soka na minuto. Vodni potencial smo merili na petih mladih paradižnikovih listih na obravnavanje. Meritve so potekale opoldne, na popolnoma osvetljenih listih s Scholandrovo tlačno komoro 3005-1223 (Scholander in sod., 1964).

2.5 Statistična analiza

Statistično analizo podatkov smo opravili s programom Statgraphics XVI (StatPoint Technologies Inc., USA). Podatke smo obdelali z analizo variance (ANOVA) ter za primerjavo povprečij hidravlične prevodnosti korenin, vodnega potenciala v listih ter morfološke analize korenin smo uporabili Duncanov preizkus mnogoterih primerjav z upoštevanjem 5% tveganja. Pri prikazu povezanosti med vodnim potencialom v listih ter hidravlično prevodnostjo korenin z morfološkimi spremembami na koreninah smo uporabili Pearsonov korelacijski koeficient z upoštevanjem 5% tveganja.

380

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Analiza koreninskega sistema je pokazala, da vstop prvega in drugega rodu ogorčic v korenino vpliva na morfološke spremembe koreninskega sistema, vpliv pa se z drugim rodом ogorčic še poveča. To potrjujejo tako meritve drobnih kot debelih korenin, saj se je pri rastlinah okuženih z nižjim inokulom površina drobnih korenin z vstopom drugega rodu ogorčic zmanjšala iz 39,2 na 24,9%, medtem ko pri rastlinah okuženih z višjim inokulom iz 33,1 na 22,8% (glej preglednico 1). Nasprotno se je pri napadenih rastlinah zaradi razvoja koreninskih šišek, povečala površina debelih korenin z vstopom drugega rodu ogorčic; pri rastlinah, okuženih z manjšim številom jajčec, se je delež debelih korenin povečal s 13,1 na 40,3%, pri rastlinah okuženimi z večjim številom jajčec pa s 24,4 na 41,5%. Pri kontrolnih rastlinah je bil delež debelih korenin pri obeh vrednotenjih enak, 4,6%. Pri drugem vrednotenju smo pri obravnavanjih z ogorčico izmerili približno ista deleža debelih korenin, 41% (glej tabelo 2). Rezultati nakazujejo zmanjšano reprodukcijo ogorčic pri rastlinah z visoko začetno populacijo, kar je zasledil tudi Di Vito in sod. (2004) na fižolu napadenim z ogorčico *M. incognita* ter na vinski trti napadeni z ogorčico *M. ethiopica* (Di Vito in sod., 2009).

Daljše obdobje parazitiranja vpliva na skupno dolžino koreninskega sistema, saj se je z vstopom ličink drugega rodu skupna dolžina korenin zmanjšala za 1,7-krat pri obravnavanju z manjšo populacijo oz. 2,5-krat pri obravnavanju z večjo populacijo (glej sliko 1).

Razvoj koreninskih šišek na napadenih rastlinah vpliva na učinkovitost transporta vode in hranil po koreninah, kar je pokazala tudi naša raziskava. Deleži debelih korenin se odražajo v volumnu ekstrahirane ksilemskega soka pri prvem vrednotenju, medtem ko pri drugem vrednotenju pri rastlinah napadenih z ogorčico nismo ekstrahirali ksilemskega soka. Rezultate si lahko razlagamo z dejstvom, da večjedrne celice povzročajo prekinitve prevodnih tkiv in razvoj nenormalnih ksilemskih elementov (Meon in sod., 1978). Pri meritvah vodnega

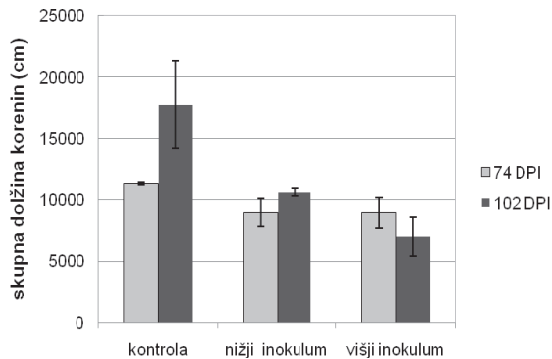
potenciala v listih smo dobili razlike samo med napadenimi in nenapadenimi - kontrolnimi rastlinami, torej velikost populacije na te meritve ni imela vpliva (glej preglednici 2 in 3).

Preglednica 1: Vpliv stopnje inokulacije ter časa parazitiranja vrste *M. ethiopica* na dolžino in površino koreninskega sistema pri paradižniku.

OBRAVNAVANJE	POVRŠINA KORENINE [%]			SKUPNA POVRŠINA KORENINE (cm ²)	
	0.0<d≤0.5 (drobne k.)	0.5<d≤1.5 (srednje k.)	d>1.5 (debele k.)		
74 DPI	Kontrola	51,4 ± 0,6 a	44,1 ± 0,7 ab	4,5 ± 0,4 a	1260,3 ± 26,7
	Nižji inokulum	39,2 ± 1,7 b	47,7 ± 0,2 a	13,1 ± 1,6 b	1193,6 ± 146,3
	Višji inokulum	33,1 ± 2,6 c	42,5 ± 0,2 b	24,4 ± 2,6 c	1345,0 ± 121,2
102 DPI	Kontrola	51,7 ± 2,8 a	43,6 ± 1,5 ab	4,7 ± 1,3 a	1941,0 ± 454,8
	Nižji inokulum	24,9 ± 1,7 d	34,8 ± 1,8 c	40,3 ± 2,5 d	1915,2 ± 47,3
	Višji inokulum	22,8 ± 0,7 d	35,7 ± 2,1 c	41,5 ± 2,7 d	1367,0 ± 319,2
ANOVA P	0,0000	0,0001	0,0000		

Podatki predstavljajo povprečja treh ponovitev ± SN; a, b,c ter d predstavljajo homogeno skupino (ni signifikantnih razlik) pri P ≤ 0.05 na podlagi Duncanovega razvrstitvenega testa.

381



Slika 1: Vpliv prvega in drugega rodu ogorčic na skupno dolžino korenin glede na ne-napadene rastline.

Preglednica 2: Vpliv stopnje inokulacije na hidravlično prevodnost korenin ter na vodni potencial v listih 74 dan po inokulaciji.

OBRAVNAVANJE	HIDRAVLIČNA PREVODNOST [g]	VODNI POTENCIAL [MPa]
Kontrola	0,26 ± 0,02 a	-0,84 ± 0,03 a
Nižji inokulum	0,18 ± 0,02 b	-0,98 ± 0,04 b
Višji inokulum	0,06 ± 0,03 c	-1,07 ± 0,04 b
ANOVA P	0,0015	0,0038

Podatki predstavljajo povprečja treh (hidravlična prevodnost) oz. petih ponovitev (vodni potencial) ±SN; a, b ter c predstavljajo homogeno skupino (ni signifikantnih razlik) pri P ≤ 0.05 na podlagi Duncanovega razvrstitvenega testa.

Preglednica 3: Vpliv stopnje inokulacije na hidravlično prevodnost korenin ter na vodni potencial v listih 102 dan po inokulaciji.

OBRAVNAVANJE	HIDRAVLIČNA PREVODNOST [g min ⁻¹]	VODNI POTENCIAL [MPa]
Kontrola	0,26 ± 0,01 a	-1,01 ± 0,04 a
Nižji inokulum	0 b	-1,17 ± 0,03 b
Višji inokulum	0 b	-1,24 ± 0,05 b
ANOVA <i>P</i>	0,0000	0,0040

Podatki predstavljajo povprečja treh (hidravlična prevodnost) oz. petih ponovitev (vodni potencial) ± SN; a in b predstavljajo homogeno skupino (ni signifikantnih razlik) pri $P \leq 0.05$ na podlagi Duncanovega razvrstitvenega testa.

Pri prvem vrednotenju so na hidravlično prevodnost korenin značilno vplivale tako debele korenine kot tudi drobne korenine, medtem ko so na vodni potencial v listih vplivale samo drobne korenine. Na meritve hidravlične prevodnosti korenin ter vodnega potenciala v listih skupna dolžina korenin ter število rastnih vršičkov nista vplivala (glej preglednico 4). Pri drugem vrednotenju na hidravlično prevodnost korenin značilno vplivajo drobne korenine ter velik negativen vpliv se kaže pri zastopanosti debelih korenin. Število rastnih vršičkov na hidravlično prevodnost korenin ne vpliva. Na vodni potencial v listih imajo drobne in debele korenine manj vpliva, kot ga imajo na hidravlično prevodnost korenin pri drugem vrednotenju. Skupna dolžina korenin ter število rastnih vršičkov na vodni potencial v listih ne vplivata (preglednica 4).

Preglednica 4: Vpliv morfoloških sprememb korenin na hidravlično prevodnost korenin ter na vodni potencial v listih.

		DROBNE KORENINE %	SREDNJE KORENINE %	DEBELE KORENINE %	SKUPNA DOLŽINA KORENIN (cm)	ŠTEVILO RASTNIH VRŠIČKOV
74 DPI	HIDRAVLIČNA PREVODNOST	0,8564*	0,3823	-0,9119	0,3611	0,0117
	VODNI POTENCIAL	0,0032**	0,3099	0,0006**	0,3398	0,9762
	VODNI POTENCIAL	0,6769	0,0873	-0,6631	0,3677	0,0805
102 DPI	HIDRAVLIČNA PREVODNOST	0,0452**	0,8234	0,0515	0,3302	0,8370
	VODNI POTENCIAL	0,9629	0,8377	-0,9731	0,7683	0,3275
	VODNI POTENCIAL	0,0000**	0,0048**	0,0000**	0,0156**	0,3896
	VODNI POTENCIAL	0,7292	0,4884	-0,6973	0,5552	0,3624
	VODNI POTENCIAL	0,0258**	0,1822	0,0368**	0,1207	0,3378

*Pearsonov koeficient korelacije;** $P \leq 0,05$; n=9

4 SKLEPI

Večjedrne celice v korenini, ki nastanejo zaradi parazitiranja ogorčic koreninskih šišk vplivajo na fiziološke lastnosti rastline. Največji vpliv na morfološke spremembe koreninskega sistema je imel drugi rod ogorčic, saj se je glede na kontrolo zmanjšala tako skupna dolžina korenin, kot tudi površina drobnih korenin. Nasprotno pa se je zaradi razvoja koreninskih šišk pri napadenih rastlinah povečala površina debelih korenin. Razvoj koreninskih šišk pri napadenih rastlinah pomembno vpliva na učinkovitost transporta vode in

hranil po koreninah, kar smo potrdili z meritvijo hidravlične prevodnosti rastlin. Ugotovili smo, da velikost populacije ogorčic ni vplivala na meritve vodnega potenciala v listih, saj smo razliko med meritvami zaznali le med napadenimi in nenapadenimi rastlinami.

5 ZAHVALA

Dr. Petru Železniku iz Gozdarskega inštituta Slovenije se zahvaljujemo za pomoč pri analizi koreninskega sistema s programom WinRHIZO (v2002c, Régent Instruments Inc.).

6 LITERATURA

- Di Vito M., Parisi B., Catalano F. 2004. Effect of population densities of *Meloidogyne incognita* on common bean. *Nematologia Mediterranea*, 32: 81-85.
- Di Vito M., Magunacelaya J.C., Ahumada T., Catalano F. 2009. Relationships between initial population densities of *Meloidogyne ethiopica* and growth of vinifera grape in pots. *Nematologia Mediterranea*, 37: 105-108.
- Hussey, R.S. & Barker, K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57: 1025-1028.
- Jaleel C.A., Manivannan P., Lakshmanan G.M.A., Gomathinayagam M., Panneerselvam R. 2008. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficit. *Colloids and Surfaces. B: Biointerfaces*, 61: 298-303.
- Jaleel C.A., Manivannan P., Wahid A., Farooq M., Somasundaram R., Panneerselvam R. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characterisation. *International Journal of Agriculture & Biology*, 11: 100-105.
- Jones M.J.K, Payne H. L. 1978. Early stages of nematode- induced giant cell formation in roots of *Impatiens balsamina*. *Journal of Nematology*, 10: 70-84.
- Karssen G., Moens M. 2006. Root-knot nematode. V: *Plant Nematology*. Perry R.N., Moens M. (ur.). London, CABI: 59-90.
- McClure, M.A., Kruk, T.H. & Misaghi, I. 1973. A method for obtaining quantities of clean *Meloidogyne* eggs. *Journal of Nematology*, 5, 230.
- Meon S., Wallace H.R., Fisher J.M. 1978. Water relations of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Early Dwarf Red) infected with *Meloidogyne javanica* (Treub), Chitwood. *Physiological Plant Pathology*, 13: 275-281.
- Scholander PF, Hammel HT, Hemmingsen EA, Bradstreet ED, 1964. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 52, 119-125.
- Strajnar P., Širca S., Knapič M., Urek G. 2011. Effect of Slovenian climatic conditions on the development and survival of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica*. *European Journal of Plant Pathology*, 129: 81-88.
- Širca S., Urek G., Karssen G. 2004. First report of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica* on tomato in Slovenia. *Plant Disease*, 88: 680.

RAZNOLIKOST SLOVENSКИH IZOLATOV PPV (*PLUM POX VIRUS*)

Mojca VIRŠČEK MARN¹, Irena MAVRIČ PLEŠKO²

^{1,2} Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

Šarka, ki jo povzroča *Plum pox virus* (PPV), povzroča pri občutljivih sortah koščičastih sadnih vrst znatno znižanje količine in kakovosti pridelka. V Sloveniji je razširjena v vseh pridelovalnih območjih koščičarjev in je ni mogoče več izkoreniniti. Izolati PPV so zelo variabilni in se združujejo v 7 različkov, ki se razlikujejo po patogenosti, gostiteljskih rastlinah, zmožnosti in učinkovitosti prenosa z ušmi in zastopanosti v različnih geografskih območjih. Določitev vrste izolata je pomemben in odločilen korak za uspešno obvladovanje in omejevanje širjenja PPV. Za proučevanje populacije PPV v Sloveniji smo v letih 2011 in 2012 na 18 lokacijah zbrali 31 vzorcev koščičarjev. RT-PCR produkte, namnožene iz izolirane celokupne RNA posameznih vzorcev s pari začetnih nukleotidov P1/P3M ali P1/P3D smo sekvencirali. S pomočjo filogenetske analize slovenskih nukleotidnih zaporedij in nukleotidnih zaporedij iz baze NCBI GenBank dolžine 908 nt na Nib/CP regiji PPV genoma smo 16 slovenskih nukleotidnih zaporedij razvrstili v skupino PPV-Rec, 10 v PPV-M in 5 v PPV-D. PPV-Rec izolati smo potrdili na 14 vzorcih iz raznih kultivarjev sliv, enem vzorcu iz koreninskih izrastkov slive in enem vzorcu cibore. Okužbo s PPV-M izolati smo potrdili pri 3 breskvah, 2 marelicah in 5 slivah, okužbo s PPV-D izolati pa pri 3 marelicah in 2 slivah. Rezultati kažejo, da so v Sloveniji zastopani izolati iz skupin PPV-Rec, PPV-M in PPV-D in da so izolati PPV-Rec na slivah prevladujoči. Identičnost nukleotidnih zaporedij slovenskih izolatov je znašala od 83,7 do 100%. Znotraj posameznih skupin izolatov so slovenski izolati pokazali manjšo variabilnost. Identičnost nukleotidnih zaporedij slovenskih izolatov je bila najvišja znotraj skupine PPV-Rec (98,0 - 100%). Slovenski izolati znotraj PPV- M izolatov so pokazali 97,6 do 99,7% identičnost, medtem ko je identičnost slovenskih izolatov iz skupin PPV-D znašala od 96,1 do 99,4%.

Ključne besede: šarka, različki, izolati, nukleotidna zaporedja, filogenetske analize

ABSTRACT

DIVERSITY OF SLOVENE PPV (*PLUM POX VIRUS*) ISOLATES

Sharka, caused by *Plum pox virus* (PPV), significantly reduces yield quality and quantity in susceptible stone fruit cultivars. In Slovenia, sharka is present in all stone fruit growing regions. PPV isolates are very diverse and have been assigned in 7 strains, which differ in their pathogenicity, host range, aphid transmissibility, and geographic distribution. Strain identification is thus an important and critical step in effective management and control of the spread of PPV. In order to study the population of PPV in Slovenia, 31 samples of stone fruits were collected from 18 locations in the years 2011 and 2012. Total RNA isolated from individual samples was used in RT-PCR using P1/P3M and P1/P3D primer pairs. Obtained amplicons were directly sequenced. Sequences of a 908 nt fragment corresponding to the Nib/CP region of Slovene isolates were compared with other sequences from the NCBI

¹ doc., dr. agr. znan., znanstvena svetnica, Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

² dr. mikrobiol. znan., višja znanstvena sodelavka, prav tam

database using phylogenetic analyses. 16 Slovene sequences clustered with PPV-Rec isolates, 5 with PPV-D isolates and 10 with PPV-M isolates. PPV-Rec isolates were detected in 14 samples taken from plum cultivars, one sample from plum root suckers and one from *P. insititia*. Infection with PPV-M was found in 3 peach samples, 2 apricot samples and 5 plum samples, whereas PPV-D isolates were detected only in apricots (3 samples) and plums (2 samples). Results show that the three major PPV strains occur in Slovenia and that PPV-Rec is predominant in plums. Sequence identity of Slovene isolates ranged from 83,7 to 100 %. Higher identities were detected within each group of isolates. The highest identity of Slovene isolates was detected within PPV-Rec group (98,0 - 100%). The identity of Slovene PPV- M isolates ranged from 97,6 to 99,7% and of PPV-D isolates from 96,1 to 99,4%.

Key words: sharka, strains, isolates, sequences, phylogenetic analyses

1 UVOD

Šarka, ki jo povzroča *Plum pox virus* (PPV), je najnevarnejše virusno obolenje koščičastih sadnih vrst, predvsem breskev in marelic ter sliv in češpelj. Pri zelo občutljivih sortah lahko okužba s PPV povzroči popolno izgubo pridelka in popoln propad dreves. Razen na količino vpliva okužba s PPV tudi na kakovost plodov. Plodovi z okuženih dreves so lahko drobnejši in vsebujejo manj sladkorjev in barvil, so brez okusa, kisli ali grenki. Taki plodovi so neuporabni za svežo porabo in za predelavo. Pogosto se zniža tudi skladiščna sposobnost plodov (Snelling, 1997).

Izolati PPV so zelo variabilni. Razporejeni so v 7 različkov: PPV-M, PPV-D, PPV-Rec, PPV-EA, PPV-C, PPV-W in PPV-T (Szathmáry in Palkovics, 2010). Ti se razlikujejo med seboj v patogenosti, gostiteljskih rastlinah, zmožnosti in učinkovitosti prenosa z ušmi in navzočnosti v različnih geografskih območjih (James in Varga, 2005). Za uspešno obvladovanje in omejevanje širjenja PPV je zato zelo pomembno, da vemo, kateri različki so razširjeni na pridelovalnem območju. V prispevku predstavljamo rezultate proučevanja populacije PPV v Sloveniji.

2 MATERIAL IN METODE

Podatki o vzorcih so prikazani v preglednici 1. Vzorce smo zbrali avtorji, del pa so jih poslali fitosanitarni inšpektorji. Za izolacijo celokupne RNA smo uporabili RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Nemčija) ali MagMax™-96 Total RNA Isolation Kit (Ambion, Teksas). Za obratno prepisovanje smo uporabili naključne začetne oligonukleotide, za verižno reakcijo s polimerazo (PCR) pa para začetnih oligonukleotidov P1/P3D (Wetzel *et al.*, 1991; Candresse *et al.*, 1998) in P1/P3M (Wetzel *et al.*, 1991; Candresse *et al.*, 1998). RT-PCR produkte smo sekvenirali (Macrogen, Nizozemska). Sekvence smo urejali in analizirali s pomočjo računalniškega programa BioEdit version 7.0.5.3 (Hall, 1999). Filogenetska drevesa smo sestavili s pomočjo programa MEGA 5 (Tamura *et al.*, 2007).

Preglednica 1: Leto in lokacija vzorčenja, vrsta in sorta vzorčenega drevesa, različek in oznaka izolata v sliki 1.

Table 1: Year and location of sampling, species and variety of sampled trees, determined strain and name of the isolate in Figure 1.

Leto	Lokacija	sadna vrsta	sorta	različek	Oznaka izolata v sliki 1
2011	Maribor, vrt	marelica	Boccuccia	PPV-D	marelica Boccuccia Maribor
2011	Maribor, vrt	marelica	Tyrinthos	PPV-M	marelica Tyrinthos Maribor
2011	Maribor, vrt	sliva	neznana	PPV-M	sliva Maribor
2011	Maribor, vrt	sliva	Domača sliva	PPV-D	sliva Domača Maribor
2011	Domžale, vrt 1	marelica	neznana	PPV-D	marelica Domžale
2011	Domžale, vrt 2	sliva	neznana	PPV-Rec	sliva Domžale
2011	Domžale, vrt 2	cibora	neznana	PPV-Rec	cibora Domžale
2011	Domžale, vrt 2	breskev	neznana	PPV-M	breskev Domžale
2011	Mengeš, vrt	marelica	neznana	PPV-M	marelica Mengeš
2011	Šempeter ¹ , vrt 1	sliva	neznana	PPV-Rec	sliva 1 Šempeter
2011	Šempeter ¹ , vrt 2	sliva	koreninski izrastki	PPV-Rec	koreninski izrastki Šempeter
2011	Šempeter ¹ , vrt 2	sliva	neznana	PPV-Rec	sliva 3 Šempeter
2011	Šempeter ¹ , vrt 2	sliva	neznana	PPV-Rec	sliva 4 Šempeter
2011	Šempeter ¹ , vrt 3	sliva	neznana	PPV-M	sliva 5 Šempeter
2011	Šempeter ¹ , vrt 3	sliva	neznana	PPV-M	sliva 6 Šempeter
2011	Šempeter ¹ , vrt 3	sliva	neznana	PPV-Rec	sliva 7 Šempeter
2011	Šempeter ¹ , vrt 4	sliva	neznana	PPV-Rec	sliva 8 Šempeter
2011	Kromberk, vrt	sliva	neznana	PPV-Rec	sliva Kromberk
2011	Kamnik, nasad	sliva	Stanley	PPV-D	sliva Stanley Kamnik
2011	Vogrsko, nasad	breskev	neznana	PPV-M	breskev Vogrsko
2011	Zemono, nasad	breskev	neznana	PPV-M	breskev Zemono
2011	Brkini, Huje	sliva	President	PPV-Rec	sliva President Huje
2012	Brkini, Podbeže, vrt	sliva	neznana	PPV-Rec	sliva 1 Podbeže
2012	Brkini, Podbeže, vrt	sliva	neznana	PPV-Rec	sliva 2 Podbeže
2012	Brkini, Podbeže, vrt	sliva	neznana	PPV-Rec	sliva 3 Podbeže
2012	Brkini, Zavrhek, nasad	sliva	Brkinska sliva	PPV-M	sliva Brkinska Zavrhek
2012	Brkini, Orehek, nasad	sliva	neznana	PPV-Rec	sliva Orehek
2012	Brkini, Slivje, nasad	sliva	Brkinska sliva	PPV-Rec	sliva Brkinska Slivje
2012	Brkini, Slivje, nasad	sliva	Stanley	PPV-M	sliva Stanley Slivje
2012	Brkini, Slivje, ob poti	sliva	sejanec	PPV-Rec	sliva sejanec Slivje
2012	Stara Gora, nasad	marelica	Bergeron	PPV-D	Marelica Stara Gora

¹Šempeter pri Novi Gorici

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Za filogenetske analize smo izbrali 908 baznih parov dolg del na Nib in CP regiji (nucleotidi 8506-9413 sekvence AY028309), ki nam je omogočil primerjavo slovenskih nukleotidnih zaporedij s številnim daljšimi, predvsem PPV-Rec nukleotidnimi zaporedji iz internetne baze NCBI GenBank. Na sliki 1 je prikazano filogenetsko drevo vseh slovenskih izolatov in izbranih izolatov PPV iz NCBI GenBank, izdelano s pomočjo metode povezovanja sosedov (Neighbor-joining) in testiranja ponovljivosti vozliča z 2.000 ponovitvami (bootstrap analysis with 2.000 replicates). Zaradi preglednosti niso prikazane vse izbrane sekvence. Uporaba drugih metod in vseh dosegljivih nukleotidnih zaporedij je dala podobne rezultate.

Slovenska nukleotidna zaporedja so v filogenetskem drevesu (Slika 1) razvrščena v skupino PPV-Rec, PPV-M ali PPV-D. PPV-Rec smo potrdili na 14 vzorcih iz raznih kultivarjev sliv, enem vzorcu iz koreninskih izrastkov slive in enem vzorcu cibore. Okužbo s PPV-M smo potrdili pri 3 breskvah, 2 marelicah in 5 slivah, okužbo s PPV-D pa pri 3 marelicah in 2 slivah.

Identičnost nukleotidnih zaporedij slovenskih izolatov je bila najvišja znotraj skupine PPV-Rec (98,0 - 100%). Slovenski izolati znotraj PPV- M izolatov so pokazali 97,6 do 99,7% identičnost, medtem ko je identičnost slovenskih izolatov iz skupin PPV-D znašala od 96,1 do 99,4%.

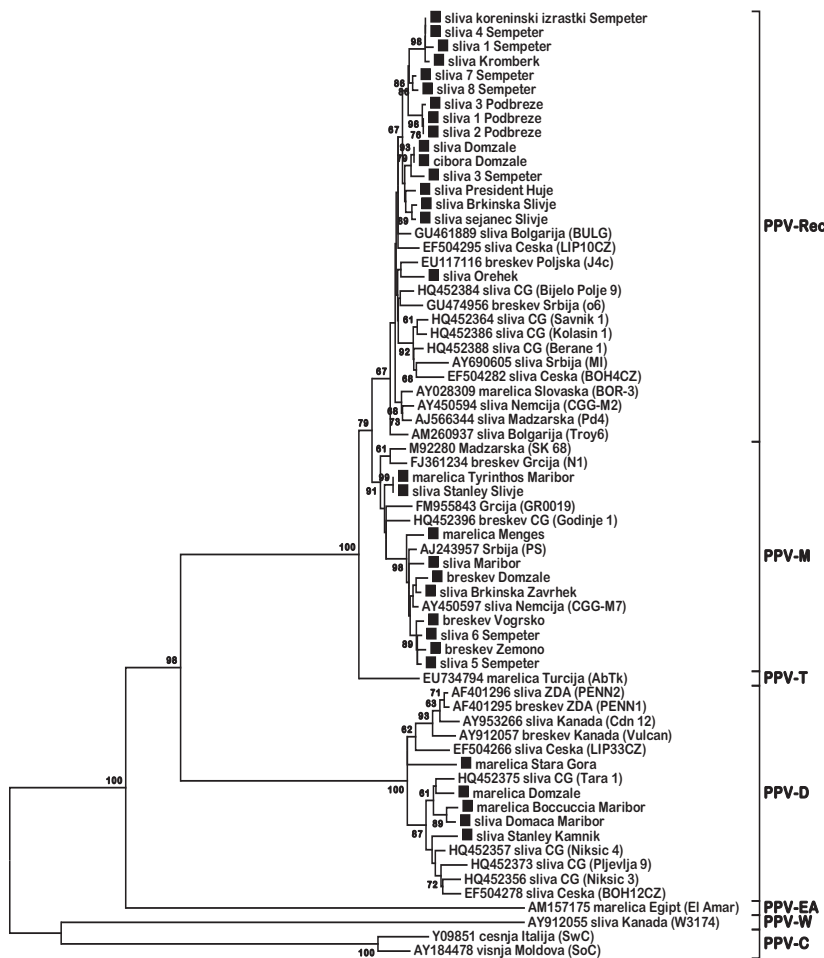
Slive v Sloveniji so okužene z različki PPV-Rec, PPV-M in PPV-D. Podobno so ugotovili tudi Matić in sodelavci (2006) v Bosni in Hercegovini in Kajić in sodelavci (2008) na Hrvaškem, medtem ko so v Črni Gori (Viršček Marn *et al.*, 2012) in Romuniji (Zagrai *et al.*, 2010) na slivah našli samo PPV-Rec in PPV-D. Na Češkem so v večini vzorcev našli PPV-Rec in PPV-D, le malo sliv pa je bilo okuženo s PPV-M (Gadiou *et al.*, 2008; Polák in Komínek, 2009). V okviru te raziskave je bila okužba z različkom PPV-Rec na slivah prevladujoča. Nekoliko drugačni so bili rezultati raziskave, ki smo jo v letih 2005 in 2006 izvedli v okviru multilateralnega projekta. Za tipizacijo smo uporabili IC RT-PCR z različnimi specifičnimi začetnimi oligonukleotidi. Sedem od 12 vzorcev sliv je bilo okuženih s PPV-M, eden s PPV-D in le trije s PPV-Rec v posamični okužbi. V enem vzorcu slive smo potrdili mešano okužbo s PPV-Rec in PPV-M. Mešano okužbo (PPV-M in PPV-D) smo razen tega našli tudi v vzorcu cibore.

Na breskvah smo v Sloveniji tako v pričujoči raziskavi kot v okviru multilateralnega projekta potrdili samo PPV-M. Breskve so lahko okužene tudi z različkom PPV-D, PPV-Rec pa najdemo na breskvah le redko (Kamenova *et al.*, 2011) in večinoma v mešani okužbi (Dallot *et al.*, 2008).

Dallot *et al.* (2011) so ugotovili, da se nukleotidna zaporedja znotraj različka PPV-M združujejo v dve podskupini, ki so ju poimenovali PPV-Ma in PPV-Mb. Ti dve podskupini najdemo tudi v okviru naše filogenetske analize. Nukleotidni zaporedji iz marelice Tyrinthos in slive Stanley iz Slivja sta razporejeni v PPV-Ma (skupaj z izolatoma GR0019 (FM955843) in N1 (FJ361234) iz Grčije in izolatom SK 68 iz Madžarske (M92280), ostala slovenska PPV-M nukleotidna zaporedja pa v podskupino PPV-Mb (skupina z izolatoma CGG-M7 iz Nemčije (AY450597) in izolatoma PS iz Srbije (AJ243957)). Vsa nukleotidna zaporedja znotraj podskupine PPV-Ma so v raziskavi Dallot in sodelavcev (2011) izvirala iz mediteranskih držav (Francija, Italija, Ciper, Grčija), medtem ko so bili izolati razporejeni v PPV-Mb zbrani v centralni in vzhodni Evropi (Češka, Srbija, Slovaška, Bolgarija). PPV je bil v Slovenijo verjetno vnesen z razmnoževalnim materialom po dveh glavnih poteh in sicer iz nekdanjih republik SFRJ, pretežno iz Srbije ter iz zahodnoevropskih držav, predvsem Italije,

zato ni presenetljivo, da najdemo v Sloveniji tako izolate iz podskupine PPV-Ma kot PPV-Mb.

388



Slika 1: Filogenetsko drevo vseh slovenskih izolatov in izbranih izolatov PPV iz NCBI GenBank izdelano na osnovi 908 baznih parov dolgih nukleotidnih zaporedij na NIB in CP regiji (nukleotidi 8506-9413 izolata AY028309) s pomočjo metode povezovanja sosedov in testiranja ponovljivosti vozlišča z 2.000 ponovitvami. Vrednosti ponovljivosti vozlišča pri 2.000 ponovitvah, ki so nižje od 60, niso prikazane. Zaradi preglednosti v predstavljeno drevo niso vključena številna nukleotidna zaporedja iz NCBI GenBank, ki so zelo podobna prikazanim. Nukleotidna zaporedja iz Slovenije so označena s črnimi kvadrati.

Figure 1: Phylogenetic tree of all Slovene PPV isolates (denoted by black squares) and selected PPV isolates from NCBI GenBank, reconstructed from 908 nt fragment corresponding to NIB(C-ter)/CP(N-ter) (nucleotides 8506-9413 of the isolate AY028309) by Neighbor-joining method. Trees were bootstrapped with 2.000 replicates. Only bootstrap values over 60% are shown. In order to keep the tree of a manageable size, several sequence variants from NCBI GenBank that are highly similar to the ones used were not included in this representation.

Znotraj PPV-D je večina slovenskih nukleotidnih zaporedij v podskupini skupaj s črnogorskimi nukleotidnimi zaporedji in nukleotidnimi zaporedji najdenimi na Češkem na slivah, ki so bile že okužene pri uvozu iz Srbije (Gadiou *et al.*, 2008). Lahko torej domnevamo, da je izvor okužb sliv in nekaterih marelic v Sloveniji na Balkanu. Nukleotidno zaporedje izolata PPV, najdenega na marelici Bergeron iz Stare Gore pri Novi Gorici, se razporeja izven skupin z visoko vrednostjo ponovljivosti vozliča (bootstrap value). Razmnoževalni material te sorte je iz Avstrije, ne vemo pa, ali je bil okužen že ob sajenju leta 2008 ali pa so okužbo iz okolice prenesle uši.

Znotraj skupine PPV-Rec se slovenski izolati večinoma razporejajo skupaj, vendar imajo skupine znotraj PPV-Rec z izjemo skupine PPV izolatov slovenskih sliv iz jugozahodne Slovenije (vrednosti ponovljivosti vozliča 86%) in sliv iz Črne Gore, Srbije in Češke (vrednosti ponovljivosti vozliča 92%) dokaj nizke vrednosti ponovljivosti vozliča.

Povzamemo lahko, da se večina slovenskih nukleotidnih zaporedij znotraj posameznih različkov razporeja skupaj, posamezni izolati pa kažejo večje razlike in so razporejeni ločeno od drugih slovenskih nukleotidnih zaporedij. Razporejanje slovenskih izolatov znotraj in med posameznimi različki večinoma ni v povezavi z rastiščem niti z gostiteljsko rastlino ampak najverjetneje z izvorom okužbe. Tako sta npr. dve marelici iz vrta v Mariboru okuženi vsaka s svojim različkom PPV. V istem vrtu raste le nekaj metrov narazen sliva, okužena s PPV-Mb in marelica, okužena z različkom PPV-Ma. Podobno sta dve slivi iz istega vrta v Šempetru pri Novi Gorici okuženi z različkom PPV-M, ena pa s PPV-Rec. Glede na zelo različen izvor razmnoževalnega materiala, ki je na voljo v Sloveniji, ti rezultati niso presenetljivi.

389

4 SKLEPI

Ugotovili smo, da so v Sloveniji zastopani izolati iz skupin PPV-Rec, PPV-M in PPV-D. Na breskvah najdemo samo različek PPV-M. V Sloveniji najdemo izolate iz podskupine PPV-Ma in podskupine PPV-Mb.

5 ZAHVALA

Delo je bilo izvedeno predvsem v okviru CRP projekta V4-1102 z naslovom »Reševanje problematike ustaljenih karantenskih boleznih sadnih vrst *Prunus* spp. za ohranitev pridelave«, ki ga financirata Javna agencija za raziskovalno dejavnost RS in Ministrstvo za kmetijstvo in okolje RS. Del sredstev je bil zagotovljen v okviru programske skupine Trajnostno kmetijstvo (P4-0133), ki ga financira Javna agencija za raziskovalno dejavnost RS. Del vzorcev je bil zbran v okviru posebnega nadzora šarke, ki ga financira Ministrstvo za kmetijstvo in okolje RS.

6 LITERATURA

- Candresse, T., Cambra, M., Dallot, S., Lanneau, M., Asensio, M., Gorris, M.T., Revers, F., Macquaire, G., Olmos, A., Boscia, D., Quiot, J.B., Dunez, J. 1998. Comparison of monoclonal antibodies and PCR assays for the typing of isolates belonging to the D and M serotypes of *Plum Pox Potyvirus*. *Phytopathology*, 88:198-204.
- Dallot, S., Glasa, M., Pittnerova, S., Paunović, S., Jevremović, D., Kamenova, I., Kominek, P., Virscek-Marn, M., Mavric Plesko, I., Milusheva, S. 2008. Prevalence and genetic structure of PPV-M in six European countries. *Acta Horticulturae*, 781: 227-234.
- Dallot, S., Glasa, M., Jevremović, D., Kamenova, I., Paunović, S., Labonne, G. 2011. Mediterranean and central-eastern European countries host viruses of two different clades of plum pox virus strain M. *Archives of Virology*, 156: 539-542.
- Gadiou, S., Safárová, D., Navrátil, M. 2008. Genetic variability of *Plum pox virus* isolates in the Czech Republic. *European Journal of Plant Pathology*, 121: 513-517.

- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- James, D., Varga, A., 2005. Nucleotide sequence analysis of *Plum pox virus* isolate W3174: Evidence of a new strain. *Virus Research*, 110: 143–150.
- Kajić, V., Cerni, S., Krajacic, M., Mikec, I., Škoric, D. 2008. Molecular typing of *Plum pox virus* isolates in Croatia. *Journal of Plant Pathology*, 90, 1: S1.9-S1.13.
- Kamenova, I., Dallot, S., Bozkova, V., Milusheva, S. 2011. First report of the *Plum pox virus* recombinant strain on peach in Bulgaria. *Plant Disease*, 95: 1320–1321.
- Martić, S., Al-Rwahnih, M., Myrta, A. 2006. Diversity of *Plum pox virus* isolates in Bosnia and Herzegovina. *Plant Pathology*, 55: 11-17.
- Polák, J., Komínek, P. 2009. Distribution of *Plum Pox Virus* Strains in Natural Sources in the Czech Republic. *Plant Protection Science*, 45, 4: 144-147.
- Snelling, C. 1997. The plum pox (sharka) virus disease in Europe. <http://www.hortnet.co.nz/publications/science/s/snelling/sharka.htm> (6.2.2012).
- Szathmáry, E., Palkovics, L. 2010. Natural deletion is not unique in the coat protein (CP) of recombinant *Plum pox virus* (PPV) isolates in Hungary. *Julius-Kühn-Archiv*, 427: 151-155.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731–2739.
- Virsecq Marn, M., Mavric Plesko, I., Zindovic, J., Miladinovic, Z. 2012. Diversity of *Plum pox virus* isolates in Montenegro. *Journal of Plant Pathology*, 94, 1: 201-204.
- Wetzel, T., Candresse, T., Ravelonandro, M., Dunez, J. 1991. A polymerase chain reaction assay adapted to plum pox potyvirus detection. *Journal of Virological Methods*, 33: 355-365.
- Zagrai, I., Zagrai L., Preda, S., Kelemen, B., Petricele, I., Popescu, O., Pamfil, D., Isac, M. 2010. Genetic diversity of *Plum pox virus* isolates in Muntenia, Romania. *Romanian Biotechnological Letters*, 15, 3: 5303-5309.

VPLIV RIZOSFERNIH BAKTERIJ NA RAST SADIK PARADIŽNIKA (*Solanum lycopersicum* L.)

Tina DEMŠAR¹, Špela KUBIK², Ana ROTTER³, Maja RUPNIK⁴, Maja RAVNIKAR⁵

^{1,3,5}Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo,
Ljubljana

²Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Ljubljana

⁴Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta Maribor, Zavod za zdravstveno varstvo Maribor,
Maribor in Center odličnosti za integrirane pristope v kemiji in biologiji proteinov, Ljubljana

IZVLEČEK

Rizobakterije (Plant Growth Promoting Rhizobacteria - PGPR) se uporabljajo za pospeševanje rasti rastlin in za biotično varstvo rastlin pred različnimi rastlinskimi patogenimi mikroorganizmi tako v kmetijstvu kot gozdarstvu. Paradižnik je ekonomsko pomembna rastlina v Sloveniji, gojimo ga v rastlinjakih in tunelih, kar je prednost pri morebitni aplikaciji bakterijskih izolatov za pospešeno rast rastlin in varstvo pred rastlinskimi patogenimi mikroorganizmi. V poskusih smo preverili pozitivni učinek izoliranih bakterij iz rizosfere paradižnika na rast rastlin paradižnika in sposobnosti inhibicije treh patogenih bakterij *in vitro*. Pri nekaterih bakterijskih izolatih iz rodu *Pseudomonas* smo opazili tako pozitiven učinek na rast sadik paradižnika kot tudi sposobnost inhibicije na nekatere testirane patogene rastlinske bakterije, zato bi bili ti izolati uporabni za nadaljnje raziskave inhibicije pred rastlinskimi patogenimi bakterijami *in vivo* in kasneje za ugotavljanje pozitivnega učinka na rast rastlin paradižnika v poljskih poskusih. Izolirane bakterije smo identificirali z analizo profila maščobnih kislin, z BIOLOG in sekvenciranjem 16S rRNA ter rezultate primerjali z drugimi identifikacijskimi metodami. Ugotovili smo, da nobena od preizkušenih metod za identifikacijo ne omogoča zanesljivo razlikovanje med različnimi sevi iz rodu *Pseudomonas*, temveč je potrebno za zanesljivo določitev uporabiti kombinacijo metod.

Ključne besede: biotično varstvo, identifikacija, paradižnik, PGPR, rizobakterije

ABSTRACT

EFFECT OF RHIZOBACTERIA ON GROWTH OF TOMATO PLANTS (*Solanum lycopersicum* L.)

Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) are used for biocontrol against various plant pathogens and to promote plant growth in both agriculture and forestry. Tomatoes are economically important plants in Slovenia, cultivation in the greenhouse and plastic tunnels is an advantage in potential application of bacterial isolates to improve plant growth and protect against plant pathogens. The positive effect on the growth of tomato plants of 21 strains isolated from the rhizosphere of tomato was examined and their ability to inhibit three pathogenic bacteria *in vitro* was tested. In some bacterial isolates of the genus *Pseudomonas*, we noticed a positive effect on the growth of tomato plants as well as their

¹ univ. dipl. biol., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

² univ. dipl. mikrobiol., prav tam

³ dr. stat. znan., prav tam

⁴ prof., dr. biol. znan., Prvomajska ulica 1, SI-2000 Maribor; Slomškov trg 15, SI-2000 Maribor; Jamova 39, SI-100 Ljubljana

⁵ prof., dr. biol. znan., Večna pot 111, SI-1000, Ljubljana

ability to inhibit some plant pathogenic bacteria tested, so these isolates are useful for the further research of inhibition against plant pathogenic bacteria *in vivo* and subsequently to identify a positive effect on the growth of tomato plants in field trials. Isolated bacteria were identified by fatty acid profile analysis, BIOLOG and sequencing of 16S rRNA and the results were compared with other identification methods. We found out that none of the tested methods for identification does not allow reliable differentiation between different strains of the genus *Pseudomonas*. For reliable identification combination of methods should be used.

Key words: biocontrol, identification, PGPR, rhizobacteria, tomato

1 UVOD

Bakterije, ki pospešujejo rast rastlin (angl. *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR)) so vse tiste rizobakterije, ki izpolnjujejo vsaj dva od treh kriterijev: kompetitivno kolonizirajo korenine rastlin, stimulirajo rast rastlin in inhibirajo patogene mikroorganizme. V terminu »biognojilo« zdužujemo vse PGPR, ki pospešujejo rast rastlin. Mehanizem delovanja v tem primeru je fiksacija dušika, dostopnost raztopljenega fosfata, produkcija rastlinskih hormonov in vsebnost hlapnih pospeševalcev rasti. Pri drugi skupini PGPR, ki jo označujemo pod terminom »biopesticid«, pa je v ospredju njihova vloga antagonista patogenih mikroorganizmov (Haas in Defago, 2005). Inhibicija patogenih mikroorganizmov je posledica tekmovanja za dostopnost hranil, preprečitve kolonizacije korenin, produkcije sekundarnih metabolitov, produkcije sideroforjev, litičnih encimov in indukcija inducirane sistemske rezistence (Van Wees in sod., 1999).

Rizobakterije so v uporabi za pospeševanje rasti rastlin in za biokontrolo pred različnimi patogenimi mikroorganizmi tako v kmetijstvu kot gozdarstvu. Študije so večinoma opravljene v treh korakih: izolacija bakterijskih sevov iz rizosfere, selekcija sevov na uporabne značilnosti in aplikacija izbranih sevov v poljskih poskusih. Zadnji korak je najtežji, ker morajo rizobakterije uspešno kolonizirati rizosfero, da so učinkovite (Kumari in Srivastava, 1999). Rizobakterije lahko dodamo direktno na semena ali v prst. Kolonizacijo korenin lahko povečamo z večanjem doze rizobakterij, z uporabo mešanic različnih sevov ali z gensko modifikacijo sevov. Uporaba rizobakterij je ustrezna alternativa ali dopolnitev uporabi pesticidov in umetnih gnojil, zato pričakujemo v prihodnosti povečano uporabo rizobakterij za pospeševanje rasti rastlin in pri biotičnem varstvu rastlin. Študije rizobakterij izoliranih iz rizosfere paradižnika so osredotočene na fluorescentne pseudomonade in na njihov vpliv na rast rastlin paradižnika in inhibicijo patogenih bakterij (Kumar in Dube, 1991).

2 MATERIAL IN METODE

Bakterijski izolati so bili izolirani iz rizoplana paradižnika (Kubik, 2002). Na podlagi njihove identifikacije (Kubik, 2002) smo izbrali 21 bakterijskih izolatov za nadaljne poskuse, ki naj bi po zbrani literaturi imeli pozitiven učinek na rast rastlin.

2.1 Inhibicija patogenih bakterij *in vitro*

Da bi preverili sposobnost bakterijskih izolatov, da inhibirajo rast patogenih bakterij *in vitro*, smo izbrali tri pogoste patogene mikroorganizme, ki povzročajo boleznine paradižnika: *Ralstonia solanacearum*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in *Xanthomonas vesicatoria*. Na gojišču King B smo naredili razmaz z vatenko za konfluentno rast patogenih bakterij. Po 24 urah inkubacije smo na vsako četrtino gojišča cepili v ravni črti izolirane PGPR bakterijske izolate. Gojišča smo inkubirali 2 dni pri 25°C.

2.2 Rastlinski poskusi, ugotavljanje pozitivnega učinka na rast rastlin

Na podlagi predhodnih rastlinskih poskusov (Demšar, 2003) smo ugotovili, da je tretiranje rastlin z bakterijsko suspenzijo v vodi najboljši presejalni test, ko želimo ugotoviti ali bakterijski sev pozitivno vpliva na rast rastlin. Za rastlinski poskus smo uporabili semena paradižnika *Solanum lycopersicum* L. kultivarja Moneymaker, ki smo jih najprej površinsko sterilizirali. Semena smo čez noč tretirali v suspenziji PGPR bakterijskih izolatov PGPR v 1% raztopini karboksimetil celuloze in jih nato posadili v steriliziran pesek. Rastline smo na 2 dni zalivali s suspenzijami bakterijskih izolatov v sterilni pitni vodi. Po 5 tednih smo tehtali svežo in suho maso korenin in zgornjih delov rastlin. Za vsak bakterijski izolat smo uporabili po 12 rastlin paradižnika. Poskus smo zaradi velikega števila preizkušenih izolatov razdelili na 3 podposkuse.

2.3 Identifikacija bakterijskih izolatov

Za identifikacijo bakterijskih izolatov smo uporabili tri različne laboratorijske metode: analizo profila maščobnih kislin, analizo metabolnega profila BIOLOG in analizo sekvenciranja 16S rRNA. Začetna identifikacija je bila opravljena že v okviru diplomske naloge (Kubik, 2002). S primerjavo vseh rezultatov smo skušali ugotoviti katera metoda ali kombinacija metod je najbolj zanesljiva za identifikacijo preučevanih bakterij.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Inhibicija patogenih mikroorganizmov *in vitro*

393

Trije bakterijski izolati so šibko zavirali rast bakterije *Ralstonia solanacearum in vitro*. 13 bakterijskih izolatov je imelo sposobnost, da zavirajo rast patogene bakterije *Xanthomonas vesicatoria*, od tega največ fluorescentnih pseudomonad. 10 bakterijskih izolatov je zaviralo rast bakterije *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. Trije bakterijski izolati so zavirali rast vseh treh testiranih patogenih bakterij (preglednica 1).

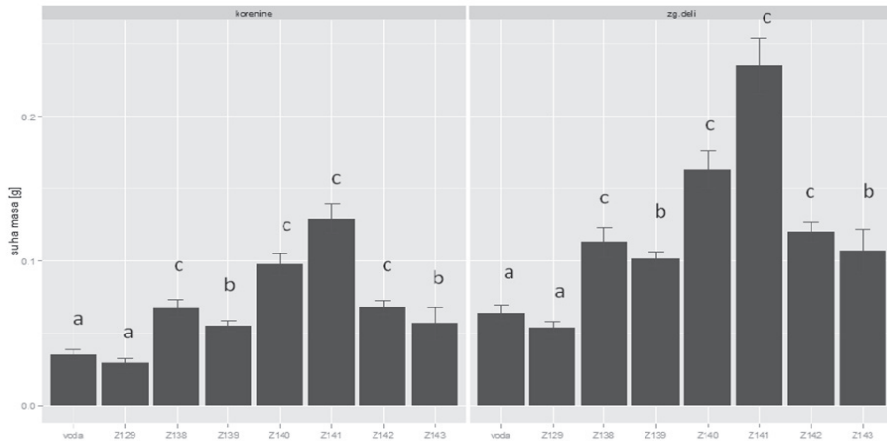
3.2 Rastlinski poskusi, ugotavljanje pozitivnega učinka na rast rastlin

Pri 6 bakterijskih izolatih smo ugotovili največji vpliv na rast rastlin (povečano svežo in suho maso korenin in zgornjih delov rastlin). Nekaj rezultatov je prikazanih na sliki 1 in v preglednici 1. Trije bakterijski izolati so identificirani kot *Pseudomonas* sp. Dva bakterijska izolata sta identificirana kot *Stenotrophomonas maltophilia*. Ker je ta bakterija lahko patogeni oportunist, ni ustrezna za nadaljnje raziskave. Negativen vpliv na rast rastlin smo ugotovili pri enem bakterijskem izolatu, ki sicer inhibira rast vseh treh testiranih patogenih bakterij *in vitro*, kar pomeni, da je pomembno testirati rizobakterije, tako na vpliv na rast rastlin kot na inhibicijo na patogene mikroorganizme, ker s tem lahko zelo hitro izločimo neprimerne izolate za nadaljne poskuse.

3.3 Identifikacija bakterijskih izolatov

Trije bakterijski izolati so pri vseh metodah, nedvoumno identificirani kot *Stenotrophomonas maltophilia*. 1 bakterijski izolat je bil z analizo profila maščobnih kislin identificiran kot *Chryseobacterium indolgenes* v diplomski nalogi Kubik, 2002 pa je izolat identificiran kot podoben *Brevundimonas diminuta*. Z analizo profila maščobnih kislin nismo dobili ustreznega rezultata za 4 izolate od skupaj 21 analiziranih izolatov. Vsi ostali 13 izolati so identificirani kot *Pseudomonas* sp. Pri vseh teh smo opazili razlike v identifikaciji pri analizi profila maščobnih kislin med različnimi bazami podatkov. Vse baze izolate sicer identificirajo

kot *Pseudomonas*, vendar različne vrste, zato smo naredili še nekaj biokemijskih testov in identifikacijo zaključili na osnovi rezultatov le-teh. Nekaj rezultatov je prikazanih v preglednici 1.



Slika 1: Povprečje suhe mase rastlin paradižnika tretiranih s 7 različnimi bakterijskimi izolati v sterilni pitni vodi v prvem podposkusu. a – ni statistično značilno (glede na kontrolo), b – mejno statistično značilno (p-vrednost je med 0.01 in 0.1), c – statistično značilno (primerjava glede na kontrolo)

Figure 1: Average dry weight of tomato plants treated with 7 different bacterial isolates in the water in first sub-experiment. a – not statistically different from control (water), b – statistically different from control (water) (p-value between 0.01 and 0.1), c – Statistically significant different from control (water)

394

Na podlagi rezultatov vseh treh identifikacijskih metod lahko sklepamo, da v našem primeru nobena uporabljena metoda sama zase ne omogoča zanesljivega razlikovanja med vrstami iz rodu *Pseudomonas*, ki so bile izolirane iz rizosfere paradižnika. Zavedati se moramo tudi, da je rizosfera pomemben rezervoar oportunističnih humanih patogenov iz rodov *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Ochrobactrum*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Staphylococcus* in *Stenotrophomonas* (Berg, 2005), zato sta dobra identifikacija in nadaljni izbor sevov zelo pomembna.

4 SKLEPI

Pri nekaterih bakterijskih izolatih smo potrdili pozitiven učinek na rast sadik paradižnika. Gre za bakterijske izolate iz rodu *Pseudomonas* (verjetno *Pseudomonas putida*) in bakterijske izolate *Stenotrophomonas maltophilia*. Bakterijski izolati *Stenotrophomonas maltophilia* niso inhibirali testiranih patogenih rastlinskih bakterij (*Ralstonia solanacearum*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas vesicatoria*) *in vitro*. Pri nekaterih bakterijskih izolatih iz rodu *Pseudomonas* pa smo opazili tako pozitiven učinek na rast sadik paradižnika kot tudi sposobnost inhibicije na nekatere testirane patogene rastlinske bakterije. Ti bakterijski izolati bi lahko prispevali k zmanjšani uporabi kemičnih pripravkov pri zatiranju rastlinskih patogenih bakterij in zmanjšanju uporabe umetnih gnojil pri gojenju paradižnika, vendar bi bile za to potrebne nadaljnje analize sposobnosti inhibicije rastlinskih patogenih bakterij *in vivo* ter nadaljni bolj obširni poskusi vpliva izbranih bakterijskih izolatov na rast sadik paradižnika različnih vrst v laboratorijskih in poljskih poskuh.

Preglednica 1: Zbirna tabela nekaterih testiranih bakterijskih izolatov z rezultati vpliva na rast rastlin, inhibicije patogenih bakterij *in vitro* in identifikacije.

Table 1: Summary table of some tested bacterial isolates with results of effect on plant growth, inhibition of pathogenic bacteria *in vitro* and identification.

Bakterijski sev	Pozitivni učinek na rast rastlin paradižnika		<i>In vitro</i> inhibicija rastlinskih patogenih bakterij			Identifikacija			
	sveža masa korenin in zg. delov rastlin	suha masa korenin in zg. delov rastlin	<i>Ralstonia solanacearum</i>	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	Profil maščobnih kislin in nekateri biokemijski testi	BIOLOG	Sekvenciranje 16S rRNA	Biokemijski testi in profil maščobnih kislin (Kubik, 2002)
NIB Z 139	++	++	ni inhibicije	inhibicija	inhibicija	ni identifikacije	ni identifikacije	/	<i>Pseudomonas aureofaciens</i>
NIB Z 140	+++	+++	ni inhibicije	ni inhibicije	ni inhibicije	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	ni identifikacije	/	podoben <i>Brevindimonas diminuta</i>
NIB Z 142	++	++	ni inhibicije	inhibicija	inhibicija	ni identifikacije	ni identifikacije	/	<i>Pseudomonas aureofaciens</i> (profil maščobnih kislin: <i>Pseudomonas fluorescens</i>)
NIB Z 143	-	+	šibka inhibicija	šibka inhibicija (inhibicija)	močna inhibicija	<i>Pseudomonas</i> sp., verjetno <i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas corrugata</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pseudomonas fluorescens</i> ali <i>Pseudomonas fluorescens</i> biovar V ali <i>Pseudomonas putida</i>
NIB Z 146	++	++	ni inhibicije	inhibicija	šibka inhibicija (inhibicija)	<i>Pseudomonas</i> sp., verjetno <i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas corrugata</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.
NIB Z 148	+++	+++	šibka inhibicija (ni inhibicije)	šibka inhibicija	ni inhibicije	<i>Pseudomonas</i> sp., verjetno <i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas putida</i> biovar A	/	ni identifikacije
NIB Z 149	++	++	šibka inhibicija	šibka inhibicija	šibka inhibicija	<i>Pseudomonas</i> sp., verjetno <i>Pseudomonas chlororaphis</i>	ni identifikacije	/	<i>Pseudomonas</i> sp.
NIB Z 150	+++	+++	ni inhibicije	šibka inhibicija	ni inhibicije	<i>Pseudomonas</i> sp., verjetno <i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas putida</i> biovar A	/	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
NIB Z 151	-	-*	šibka inhibicija	inhibicija	inhibicija	ni identifikacije	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	<i>Pseudomonas</i> sp. / <i>Pseudomonas aureofaciens</i>	<i>Pseudomonas aureofaciens</i> (profil maščobnih kislin: ni identifikacije)
NIB Z 152	+++	+++	ni inhibicije	ni inhibicije	ni inhibicije	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	/	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
NIB Z 153	+++	+++	ni inhibicije	ni inhibicije	ni inhibicije	<i>Pseudomonas</i> sp., verjetno <i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas putida</i> biovar A	<i>Pseudomonas putida</i> / <i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pseudomonas putida</i>
NIB Z 154	++	++	ni inhibicije	šibka inhibicija	ni inhibicije (F)	<i>Pseudomonas</i> sp., verjetno <i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotip F	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.
NIB Z 156	++	++	ni inhibicije	inhibicija	močna inhibicija	<i>Pseudomonas</i> sp., verjetno <i>Pseudomonas chlororaphis</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotip G	Uncultured soil bacterium / <i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> (profil maščobnih kislin: <i>Pseudomonas chlororaphis</i>)
NIB Z 157	+ / ++	++	ni inhibicije	*	močna inhibicija	<i>Pseudomonas</i> sp., verjetno <i>Pseudomonas chlororaphis</i>	ni identifikacije, verjetno <i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp. / <i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (profil maščobnih kislin: <i>Pseudomonas chlororaphis</i>)

Simboli: - ni povečano glede na kontrolo, + rahlo povečanje glede na kontrolo, ++ povečanje glede na kontrolo, +++ močno povečanje glede na kontrolo, -* zmanjšano glede na kontrolo, F rast patogene bakterije okoli testiranega izolata boljša, * testni organizem se je močno razrasel

Na podlagi rezultatov vseh treh identifikacijskih metod (profil maščobnih kislin, BIOLOG, sekvenciranje 16S rRNA) lahko sklepamo, da nobena metoda sama zase v našem primeru ne omogoča zanesljivo razlikovanje med sevi iz rodu *Pseudomonas*, ki so bile izolirane iz

rizosfere paradiznika. Edini izolat ki je bil v vseh primerih nedvoumno karakteriziran je bil *Stenotrophomonas maltophilia*.

5 ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujemo bakteriološkemu laboratoriju Plant Protection Service na Nizozemskem, za pomoč pri izvedbi analize profila maščobnih kislin in Igorju Zidariču (Kmetijski inštitut Slovenije) za pomoč pri analizi BIOLOG.

6 LITERATURA

- Berg G., Eberl L., Hartmann A. 2005. The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. *Environmental Microbiology*, 7,11: 1673-1685
- Demšar, T., Kubik Š., Ravnikar, M., Rupnik, M. 2003. Characterization of rhizobacteria from tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) rhizoplane. V: AVŠIČ-ŽUPANC, Tatjana (ur.). 1st FEMS Congress of European Microbiologists, Slovenia, Ljubljana, *Abstract book*. Delft, The Netherlands: FEMS, str. 375.
- Haas D., Defago G. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*, 3,4: 307-319
- Kubik Š. 2002. Izolacija in karakterizacija bakterij iz rizoaplana paradiznika. Diplomsko naloga. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
- Kumari V., Srivastava J.S. 1999. Molecular and biochemical aspects of rhizobacterial ecology with emphasis on biological control. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15, 5: 535-543
- Kumar B.S.D., Dube H.C. 1991. Plant Growth-Promoting Activity of A Fluorescent Pseudomonas from Tomato Rhizoplane. *Indian Journal of Experimental Biology*, 29,4: 366-370
- VanWees S. C. M., Luijendijk M., Smoorenburg I., Van Loon L. C., Pieterse C. M. J., 1999, Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* is not associated with a direct effect on expression of known defense-related genes, but stimulates the expression of the jasmonate-inducible gene *Atvsp* upon challenge, *Plant Mol. Biol.*, 41: 537-549

SPREMLJANJE GLIV IZ RODU *Monilinia* NA CVETOVIH, LISTIH IN PLODOVIH BRESKEV IN MARELIC Z METODO PCR V REALNEM ČASU

Alenka MUNDA¹, Barbara GERIČ STARE²

^{1,2} Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

Sadna gniloba je pomembna glivična bolezen koščičarjev. V naših rastnih razmerah povzroča znatne izgube pridelka tako med obiranjem kot med skladiščenjem in transportom. Nevarnejša je v letih s pogostimi padavinami in zmernimi temperaturami. Bolezen povzročajo glive iz rodu *Monilinia*, bodisi domorodni vrsti *M. laxa* in *M. fructigena*, bodisi introducirana karantenska vrsta *M. fructicola*. Pogoste so tudi mešane okužbe z vsemi tremi glivami. Pojav in jakost bolezni sta v veliki meri odvisna od navzočnosti konidijev, ki povzročijo primarne in sekundarne okužbe. Namen naše raziskave je bilo ugotavljanje konidijev gliv iz rodu *Monilinia* na površju cvetov, listov in plodov izbranih vrst koščičarjev. Tako smo v letu 2012 v enakomernih časovnih intervalih vzorčili cvetove, liste in plodove v štirih proizvodnih nasadih breskev in marelic na Goriškem. Opravili smo osem vzorčenj, razporejenih skozi vso rastno dobo. Vzorce smo pripravili s spiranjem trosov gliv s površine nabranih rastlinskih delov in jih nato analizirali z metodo PCR v realnem času na podlagi TaqMan kemije. Med analiziranimi 102 vzorci nismo zasledili glivo *M. fructicola*, pri 55 vzorcih pa smo potrdili zastopnost drugih vrst iz rodu *Monilinia*.

Ključne besede: *Monilinia* spp., PCR v realnem času, sadna gniloba

ABSTRACT

MONITORING OF *Monilinia* sp. ON FLOWERS, LEAVES AND FRUITS OF PEACH AND APRICOT USING REAL-TIME PCR

Brown rot is an important fungal disease of stone fruits. In our production region it causes substantial pre- and postharvest losses, particularly in the years with frequent precipitations and moderate temperatures. The disease can be induced either by the two indigenous species *M. laxa* and *M. fructigena*, or by the newly introduced quarantine species *M. fructicola*. Frequently all three species act together in mixed infections. The incidence and severity of the disease largely depends on the availability of conidia that induce primary and secondary infections. The aim of our study was to monitor the occurrence of *Monilinia* spp. conidia on flower, leaf and fruit surfaces of selected stone fruit species. In 2012 we collected flowers, leaves and fruits in regular intervals in four commercial peach and apricot orchards in the Goriška region. Eight field surveys were conducted during the entire growing season. Samples were prepared by rinsing fungal spores from the surface of collected plant material and further analyzed using real-time PCR based on TaqMan chemistry. *M. fructicola* has not been detected in any of the 102 samples, while the presence of other *Monilinia* has been detected in 55 samples.

Key words: brown rot, *Monilinia* spp., real-time PCR

¹ dr., univ. dipl. inž. agr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

² dr., univ. dipl. biol., prav tam

1 UVOD

Sadna gniloba je pomembna glivična bolezen koščičarjev. V naših rastnih razmerah se pojavlja redno in povzročča izgube pridelka tako med obiranjem kot tudi pozneje, med skladiščenjem in transportom sadja. Nevarnejša je v letih z zmernimi temperaturami in pogostimi padavinami, ki spodbujajo tvorbo trosov in širjenje okužbe. Bolezen povzročajo glive iz rodu *Monilinia*. Rod vključuje številne vrste, ki jih uvrščamo v dve skupini: *Juntoriae* in *Disjuntoriae*. Vse gospodarsko pomembne povzročiteljice sadne gnilobe sodijo v skupino *Juntoriae*. Pri nas sta pogosti in razširjeni predvsem domorodni vrsti *M. laxa* in *M. fructigena*. Leta 2009 je bila k nam vnesena tudi *M. fructicola* (Munda, Viršček-Marn, 2010), ki velja za nevarnejšo od domačih vrst in je bila do nedavna uvrščena med karantenske škodljive organizme.

Glive iz rodu *Monilinia* povzročajo dve vrsti poškodb: propadanje cvetov in mladih poganjkov ter gnitje plodov. Pojav in jakost bolezni sta odvisna od trosov oz. inokuluma povzročiteljev bolezni. Odstranjevanje virov okužbe in s tem zmanjšanje inokuluma je tako ključnega pomena pri varstvu pred boleznijo. V odmrlih tkivih, kjer glive prezimijo, se spomladi ob ugodnih vremenskih razmerah oblikujejo trosi, ki predstavljajo primarni inokulum in povzročajo okužbo cvetov in plodičev. Kasneje se bolezen širi s sekundarnimi trosi. Poglavitni viri primarnega inokuluma so mumificirani plodovi in veje z razjedami. Viri sekundarnega inokuluma pa so vsa okužena tkiva, na katerih se med letom oblikujejo trosi. Glede na vremenske razmere se razvije različno število generacij sekundarnih trosov. Njihova koncentracija v zraku narašča vse od prvega pojava okužb na plodovih pa do obiranja plodov (Holb, 2008). Primarne in sekundarne okužbe lahko ostanejo prikriti oz. latentne vse dokler vremenske razmere ne postanejo ugodne za širjenje bolezni (Gell *et al.*, 2008).

Namen naše raziskave je bilo spremljanje trosov gliv povzročiteljic sadne gnilobe v nasadih koščičarjev med rastno dobo. Predstavljamo ugotovitve o pojavljanju trosov teh gliv na površini cvetov, listov in plodov pri izbranih sortah breskev in marelic v rastni dobi leta 2012.

2 MATERIAL IN METODE

V letu 2012 smo v enakomernih časovnih intervalih vzorčili na videz zdrave cvetove, liste in plodove v štirih nasadih breskev in marelic na Goriškem. Opravili smo osem vzorčenj, razporejenih skozi vso rastno dobo. Vzorce smo pripravili tako, da smo nabrane rastlinske dele spirali v sterilni destilirani vodi (10 ml) na stresalniku (30 minut, 170 obratov/min). Dobljeno suspenzijo trosov smo zgostili s centrifugiranjem ter odvzeli 100 μ l tekočine, iz katere smo izolirali DNA gliv s pomočjo robota MagMax in komercialnega kompleta MagMax 96 Total RNA Isolation Kit (Ambion). Vzorce DNA smo nato analizirali z metodo PCR v realnem času na podlagi TaqMan kemije (Brouwershaven *et al.*, 2010). Metoda je zelo občutljiva in omogoča zanesljivo detekcijo vrste *M. fructicola* ter skupine drugih povzročiteljic sadne gnilobe (*M. fructigena*, *M. laxa* in *Monilia polystroma*). Ob vsakem vzorčenju smo del nabranega rastlinskega materiala (cvetovi, plodiči in zreli plodovi) uporabili za ugotavljanje latentne okužbe. Rastlinske dele smo površinsko razkužili in 7 dni inkubirali pri temperaturi 23°C; plodiče smo pred tem za 10 ur zamrzili pri temperaturi -14°C (Emery *et al.*, 2000). Na latentno okuženih delih so se po inkubaciji razvili trosonosci in trosi gliv iz rodu *Monilinia*.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Analizirali smo 102 vzorca, ki sta predstavljala mikofloro na površju cvetov, listov in plodov breskev in marelic, vzorčenih od cvetenja pa do zorenja plodov. Glive povzročiteljice sadne gnilobe smo ugotovili pri dobri polovici vzorcev (55 vzorcev). Pri marelicah so bili trosi na površju rastlinskih delov izrazitejši v času cvetenja in ob zorenju plodov, pri breskvah pa v

zgodnji fazi zorenja plodov. Del rezultatov o spremljanju trosov pri izbranih sortah marelic in breskev predstavljamo v preglednici 1. Pri analiziranih vzorcih nismo zasledili glive *M. fructicola*, čeprav se proučevani nasadi nahajajo na varnostnem območju za to glivo. Pokazali pa smo zastopanost drugih gliv rodu *Monilinia* (*M. fructigena*, *M. laxa* in/ali *Monilia polystroma*). Za zdaj vrsta *Monilia polystroma* v Sloveniji še ni bila potrjena in je z uporabljenimi metodami tudi ne moremo nedvoumno določiti. Razmeroma majhno število pozitivnih vzorcev, pri katerih smo potrdili glive povzročiteljice sadne gnilobe, lahko pripišemo vremenskim razmeram, ki so bile v času trajanja poskusa neugodne za razvoj sadne gnilobe, kar se je odražalo tudi v razmeroma nizkem odstotku okuženih plodov in visokem deležu latentnih okužb.

Preglednica 1: Trosi gliv iz rodu *Monilinia* v izbranih nasadih marelic in breskev

datum vzorčenja	nasad	sadna vrsta in sorta	trosi na ^a		latentna okužba (%) ^b
			cvet-ovih	plod-ovih	
16. 3. 2012	1	marelica, Goldrich	+		0
		marelica, Bora	+		2
27. 3. 2012	2	breskev, Norman	-		0
		breskev, Maria Marta	-		0
		breskev, Redhaven	-		0
		breskev, Veteran	-		0
19. 4. 2012	1	breskev, Rubirich	+		0
		marelica, Goldrich		-	0
15. 5. 2012	1	marelica, Bora		+	30
		marelica, Goldrich		-	NT
15. 6. 2012	1	marelica, Bora	+	+	39
		marelica, Goldrich	+	-	0
		breskev, Norman	+	-	0
		breskev, Maria Marta	+	-	0
27. 6. 2012	2	breskev, Redhaven	+	-	0
		breskev, Veteran	-	-	NT
		breskev, Rubirich	+	+	22
		marelica, Goldrich	+	+	5
25. 7. 2012	2	marelica, Bora	+	+	0
		breskev, Norman	-	-	0
		breskev, Maria Marta	-	-	0
		breskev, Redhaven	-	-	16
9. 8. 2012	3	breskev, Veteran	-	-	0
		breskev, Maria Marta	+	-	45
9. 8. 2012	3	breskev, Veteran	+	-	23
		breskev, Veteran	+	-	23

Legenda:

a - trosi vrst iz rodu *Monilinia*, določeni z metodo PCR v realnem času

b – delež okuženih cvetov, plodičev ali zrelih plodov po površinskem razkuževanju in sedemdnevni inkubaciji v laboratoriju; NT – ni podatka

Dinamika inokuluma gliv iz rodu *Monilinia* je bila predmet številnih raziskav, v katerih so bodisi spremljali koncentracijo trosov v zraku (Corbin *et al.*, 1968; Lou *et al.*, 2007) bodisi ugotavljali trose na površju plodov (Gell *et al.*, 2009; Villarino *et al.*, 2012). Metode, ki so jih pri tem uporabili, večinoma temeljijo na mikroskopskem pregledu ulovljenih trosov. Ker so si

vrste rodu *Monilinia* zelo podobne, jih po morfoloških značilnostih trosov ne moremo razlikovati. Za nedvoumno identifikacijo vrste moramo uporabiti molekulske tehnike. Konvencionalni PCR, ki se sicer rutinsko uporablja za identifikacijo teh gliv, je za spremljanje inokuluma gliv manj primeren. Zaradi znatno večje občutljivosti je metoda PCR v realnem času (Brouwershaven *et al.*, 2010), ki omogoča kvantifikacijo vrste *M. fructicola*, veliko ustrežnejša za spremljanje nihanja inokuluma med rastno dobo.

Kvantifikacija in spremljanje nihanja inokuluma gliv povzročiteljic sadne gnilobe v sadovnjaku sta pomembna parametra pri napovedovanju izbruhov bolezni, določanju rokov škropljenj in oceni jakosti okužbe (Luo *et al.*, 2007). V epidemiološki študiji, ki so jo Gell in sodelavci (2009) opravili v Španskih nasadih breskev, so potrdili pozitivno korelacijo med številom trosov na površini rastlinskih delov in pogostostjo latentnih okužb. Ugotavljajo, da je latentnih okužb več ob vremenskih razmerah, ki za razvoj bolezni niso ugodne. Opozarjajo tudi, da je za učinkovito varstvo pred boleznijo poleg odstranjevanja primarnih virov okužbe potrebno tudi zmanjšanje števila trosov na površini plodov.

4 SKLEPI

Z metodo PCR v realnem času smo analizirali 102 vzorca in zastopanost gliv povzročiteljic sadne gnilobe potrdili pri 55 vzorcih. Vrste *M. fructicola* nismo ugotovili, potrdili pa smo trose drugih povzročiteljic sadne gnilobe. Pojav in jakost sadne gnilobe sta v veliki meri odvisna od trosov, ki povzročijo primarne in sekundarne okužbe. Z raziskavo smo pokazali, da je metoda PCR v realnem času uporabna za ugotavljanje trosov na površju rastlinskih delov, kar je eden od pomembnih parametrov pri napovedovanju pojava bolezni.

5 ZAHVALA

Delo je nastalo v okviru ciljnega raziskovalnega projekta V4-1102 Reševanje problematike ustaljenih karantenskih bolezni sadnih vrst *Prunus spp.* za ohranitev pridelave, ki ga financirata ARRS in Ministrstvo za kmetijstvo in okolje. Za pomoč pri izvedbi se zahvaljujemo dr. Nikiti Fajt in Sadjarskemu centru Bilje.

6 LITERATURA

- Brouwershaven van, I.R., Bruil M.L., Leeuwen van, G.C.M., Kox, L.F.F., 2010. A real-time (TaqMan) PCR assay to differentiate *Monilinia fructicola* from other brown rot fungi of fruit crops, *Plant Pathology* 59: 548–555.
- Corbin, J. B., Ogawa, J. M., Schultz, H. B., 1968. Fluctuations in numbers of *Monilinia laxa* conidia in an apricot orchard during the 1966 season. *Phytopathology*, 58: 1387–94.
- Emery, K. M., Michailides, T. J., Scherm, H., 2000. Incidence of latent infection of immature peach fruit by *Monilinia fructicola* and relationship to brown rot in Georgia, *Plant Disease*, 84: 853–857.
- Gell, I., De Cal, A., Torres, R., Usall, J., Melgarejo, P., 2008. Relationship between the incidence of latent infections caused by *Monilinia* spp. and the incidence of brown rot of peach fruit: factors affecting latent infection. *European Journal of Plant Pathology*, 121: 487–498.
- Holb, I. J., 2008. Monitoring conidial density of *Monilinia fructigena* in the air in relation to brown rot development in integrated and organic apple orchards. *European Journal of Plant Pathology*, 120: 397–408.
- Munda, A., Viršček Marn, M., 2010. First report of brown rot caused by *Monilinia fructicola* affecting peach orchards in Slovenia. *Plant disease.*, 94: 1166.
- Luo, Y., Ma, Z., Reyes, H.C., Morgan, D., Michailides, T.J., 2007. Quantification of airborne spores of *Monilinia fructicola* in stone fruit orchards of California using real-time PCR, *European Journal of Plant Pathology*, 118:145-154.
- Villarino, M., Melgarejo, P., Usall, J., Segarra, J., Lamarca, N., De Cal A., 2012. Secondary inoculum dynamics of *Monilinia* spp. and relationship to the incidence of postharvest brown rot in peaches and the weather conditions during the growing season. *European Journal of Plant Pathology*, 133: 585–598.

PRAKTIČNI VIDIK AEROBIOTIČNIH MERITEV IZBRUHOV ASKOSPOR JABLANOVEGA ŠKRLUPA (*Venturia inaequalis* [Cooke] Wint.)

Domen BAJEC¹, Andreja PETERLIN², Lucija LESKOVŠEK³, Karmen RODIČ⁴

^{1, 2, 4} KGZS – Zavod NM, Služba za varstvo rastlin, Novo mesto

³ Griže

IZVLEČEK

Primarne okužbe jablanovega škrlupa spremljamo z različnimi postopki, med katerimi so tudi metode za spremljanje sproščenega inokuluma askospor v ozračje. Gliva *Venturia inaequalis* v zimskem času na odpadlem listju jablane oblikuje spolna plodišča - pseudotecije, v katerih se oblikujejo askusi z askosporami. Izbruhi askospor se začnejo ob ugodnih okoljskih razmerah z zadostno vlago in temperaturo, navadno tik pred začetkom ravnega obdobja jablane. Kvalitativne metode temeljijo na primerjavi stanja. Izvajamo jih v nasadu na pripravljenem nastavku okuženega odpadlega listja bodisi z vazelinskimi objektnimi stekelci, bodisi Hirst-ovim tipom lovilca spor. V nastavek med meritvami ne posegamo. Jakost posameznega izbruha primerjamo s predhodnimi meritvami. Količina inokuluma askospor se začne ob koncu maja praviloma nižati in se dokončno sprosti do druge dekade junija. Oba postopka po tej metodi sta časovno zamudna in omogočata napake. Najpogosteje prihaja do zamenjav pri vizualnem prepoznavanju askospor *Venturia inaequalis*. Le tem so zelo podobne npr. spore rodu *Alternaria* z eno septo, ki so pogostejše ob zaključevanju primarnih okužb z jablanovim škrlupom, saj se na odpadlem listju razvije množica drugih saprofitskih gliv. Pogosta je tudi neprepoznavnost askospor *Venturia inaequalis* zaradi deformacije ob izsuševanju ali tvorbi kličnega mešička. Meritve po kvantitativni metodi lahko izvajamo s ciklonskim povzorčevalnikom, ki omogoča dejansko meritev količine delcev v volumnu zraka v določeni časovni enoti. Zajem delcev v kivate omogoča tudi nadaljnje molekularno določanje. Ta metoda je zaradi stroškov in tehničnih ovir lovilne naprave še vedno manj praktična.

Ključne besede: aerobiotične meritve, askospore, ciklonski povzorčevalnik, Hirst-ov povzorčevalnik, jablanov škrlup

ABSTRACT

PRACTICAL ASPECT OF AEROBIOLOGICAL APPLE SCAB (*Venturia inaequalis* [Cooke] Wint.) ASCOSPORE OUTBURSTS MEASUREMENTS

Apple scab primary infections are examined with different procedures. Amongst them are methods for detecting atmosphere ascospore inoculum discharge. During winter on fallen apple leaves fungus *Venturia inaequalis* develops fruiting bodies - pseudotecia in which asci with ascospores are formed. Ascospores outbursts start at favourable environmental conditions with adequate water and temperature, usually just before the apple tree growing season. Qualitative methods are based on comparison of condition and are conducted in orchard on dead apple leaves set with Vaseline slides or Hirst type of spore sampler. Set of leaves must not be bothered during the measurements. The intensity of separate outbursts is

¹ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, SI-8000 Novo mesto

² dipl. inž. agr. in hort., prav tam

³ dr. agr. znan., Pongrac 83, 3302 Griže

⁴ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, 8000 Novo mesto

compared to previous ones. The quantity of inoculum starts to decrease at the end of May and is lastly released in the second decade of June. Both procedures are time consuming and enable mistakes. Of them, most common is visual misconception of *Venturia inaequalis* ascospores with *Alternaria* single septa spores that are frequent at apple scab primary infections endings. At that time leaf litter is inhabited with many saprophytic microorganisms. We can furthermore miss dried or by germ tube deformed ascospores. Quantitative measurements can proceed by cyclone spore sampler which samples actual quantity of particles in volume of air in specified time unit. Spores are caught in vials and allow further molecular diagnostic methods. This method has still limited application due to operation expenses and technical obstacles of the cyclone sampler.

Keywords: aerobiological measurements, Apple scab, ascospores, cyclone sampler, Hirst sampler

1 UVOD

Jablanov škrlup je v nasadih jablane najpomembnejša glivična bolezen. Povzroča jo vrsta *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter iz skupine zaprtotrošnic. Za uspešno varstvo je napovedovanje možnih okužb odločilnega pomena. Primarne okužbe jablanovega škrlupa spremljamo z različnimi postopki, med katerimi so tudi metode za spremljanje sproščenega inokuluma askospor v ozračje. *Venturia inaequalis* v zimskem času na odpadlem listju jablane oblikuje spolna plodišča – pseudotecije, v katerih se oblikujejo askusi z askosporami. Izbruhi askospor se začnejo ob ugodnih okoljskih razmerah z zadostno vlago in temperaturo, navadno tik pred začetkom vegetacijske dobe jablane. Poznamo dva tipa metod spremljanja: kvalitativne in kvantitativne. Obe metodi imata svoje prednosti in tudi določene pomanjkljivosti.

2 METODE IN MATERIALI

Kvalitativne metode temeljijo na primerjavi trenutno in predhodno sproščenega inokuluma (Bajec in sod., 2008). Izvajamo jih v nasadu na pripravljenem nastavku okuženega odpadlega listja bodisi z vazelinskimi objektnimi stekelci (Ciglar, 1998), bodisi s Hirst-ovim tipom lovilca spor. V nastavek med meritvami ne posegamo. Jakost posameznega izbruha ocenjujemo s primerjavo predhodnih meritev.

Meritve po kvantitativni metodi lahko izvajamo s ciklonskim povzorčevalnikom, ki omogoča dejansko meritev količine delcev v volumnu zraka v določeni časovni enoti. Zajem delcev v kivete omogoča tudi nadaljnje molekularno določanje količine infektivnega materiala.

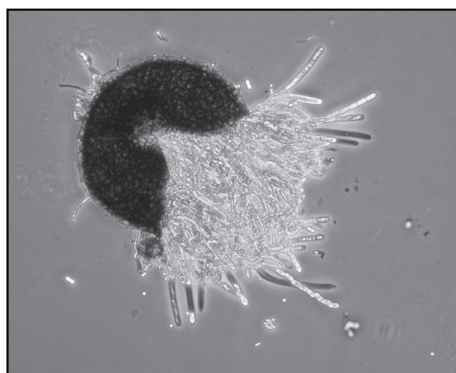
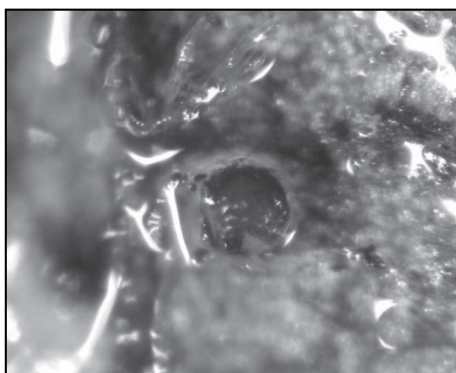
3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Oba postopka prepoznavanja spor po kvalitativni metodi sta časovno zamudna in omogočata napake (Bajec in sod., 2008). Količina inokuluma askospor začne ob koncu meseca maja praviloma upadati in se dokončno sprost do druge dekade junija. Mestoma se v praksi ob zaključkih primarnih okužb z jablanovim škrlupom srečamo z nenavadnim povečevanjem števila askospor, kar je lahko posledica široke pestrosti mikoflore, hkrati pa nakazujejo na možne nepravilnosti pri njihovem prepoznavanju. Pri vizualnem prepoznavanju askospor *Venturia inaequalis* najpogosteje prihaja do zamenjav z njim podobnimi mono-septiranimi sporami *Alternaria* sp., ki so ob zaključevanju primarnih okužb z jablanovim škrlupom dokaj pogoste. Na odpadlem listju se namreč razvija pestra množica saprofitskih gliv. Po obliki, dimenzijah in terminu sproščanja obstaja tudi velika podobnost z askosporami vrst *Nectria* spp. V tem pogledu je spremljanje izbruhov askospor z vazelinskimi stekelci nameščenimi tik

nad odpadlim listjem zanesljivejše. Po drugi strani pa je pogosta tudi neprepoznavnost askospor *Venturia inaequalis* zaradi deformacije ob izsuševanju ali tvorbi kličnega mešička. Pri vrednotenju dinamike sproščanja askospor v naravi, v desetletnem obdobju 2003-2012 ugotavljamo, da so za začetek sproščanja inokuluma odločilne zlasti okoljske razmere, ki sprva vplivajo na oblikovanje in razvoj pseudotecijev ter v nadaljevanju na oblikovanje, zorenje ter sproščanje askospor. Inokulum askospor se praviloma sprosti konec prve deкаде meseca junija.

Kvantitativna metoda s ciklonskim povzorčevalnikom je zaradi stroškov in tehničnih ovir lovilne naprave še vedno manj praktična. S preizkušanjem delovanja na askosporah drugih vrst gliv je namreč Larson s sodelavci (2001) pokazal na tehnične pomanjkljivosti Burkardovega ciklonskega vzorčevalnika. Večina vzorčenega materiala namreč zastaja na površini aluminijastega cilindra, ki vrtniči vsesani zrak. Preizkušena naprava je trenutno edini komercialno dostopen ciklonski aerobiotski vzorčevalnik.

403



Sliki 1 in 2: Pseudotecij glive *Venturia inaequalis* spomladi na odpadlem jablanovem listu in razpočen med izbruhom askospor. Foto: D. Bajec
Figures 1 and 2. *Venturia inaequalis* pseudothecium in spring time on fallen apple leaf and outburst during ascospores projection. Photo D. Bajec



Slika 3: Askusi med sproščanjem 8 askospor *Venturia inaequalis*. Foto: D. Bajec
Figure 3: Asci during 8 *Venturia inaequalis* ascospores release. Photo: D. Bajec



Sliki 4 in 5: Spore *Alternaria* sp. z eno septo so po obliki in velikosti ($5-8 \times 15-18 \mu\text{m}$) močno podobne askosporam *Venturia inaequalis* (velikost $5-6 \times 12-15 \mu\text{m}$). Na posnetku levo je prikazano oblikovanje spor z drobljenjem, brstenjem. Prikazane spore so vzgojene v kulturi iz konice hife. Foto: D. Bajec
Figures 4 and 5: *Alternaria* sp. Spores with one septa are by shape and dimension ($5-8 \times 15-18 \mu\text{m}$) much alike *Venturia inaequalis* (velikost $5-6 \times 12-15 \mu\text{m}$) ascospores. On figure left is shown spore formation by fragmentation. Demonstrated spores are cultured from hypha tip. Photo: D. Bajec

4 LITERATURA

- Bajec, D., Rodič, K., Peterlin, A. 2008. Standardni operativni postopki, Poslovnik kakovosti Službe za varstvo rastlin ver. 03. KGZS – Zavod Novo mesto, Služba za varstvo rastlin.
- Ciglar, I., 1998. Integralna zaščita vočnjaka i vinograda. Zrinski, Čakovec; str. 301
- Larson, C., Francl, L. J., and Friesen, T. 2001. Evaluation of the Burkard cyclonic spore sampler for collection efficiency of ascospores. *Plant Dis.* 85: 1249-1252.
- MacHardy, W.E. 1996. *Apple Scab: Biology, Epidemiology, and Management*, APS Press, St. Paul, Minnesota; str. 545.
- Mills. W. D.; LaPlante, A. A. 1951: Control of diseases and insects in the orchard. New York Agricultural Experiment Station (Ithaca) extension bulletin; Vol. 711: 18-22
- Sodelavci Službe za varstvo rastlin. 2002-2012. Letna poročila o opazovalno napovedovalni dejavnosti za leta 2002-12. KGZS – Zavod Novo mesto, Služba za varstvo rastlin.

SPREMENJEN PRIMARNI IN SEKUNDARNI METABOLIZEM JAGOD ZARADI OKUŽBE Z GLIVO *Colletotrichum nymphaeae* (Pass.) AA

Maja MIKULIČ-PETKOVŠEK¹, Nika WEBER², Valentina SCHMITZER³, Jerneja JAKOPIČ⁴, Franci ŠTAMPAR⁵, Darinka KORON⁶, Alenka MUNDA⁷, Robert VEBERIČ⁸

^{1,2,3,4,5,8} Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana
⁶ Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za sadjarstvo, vinogradništvo in vinarstvo, Ljubljana
⁷ Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

Pri sorti 'Clery' smo spremljali učinek okužbe z glivo *Colletotrichum nymphaeae* na vsebnost sladkorjev, organskih kislin in posameznih fenolov. Primarne metabolite smo analizirali s pomočjo HPLC-RI-PDA, fenolne snovi pa s HPLC-PDA-MS. *Colletotrichum nymphaeae*, je povzročil padec saharoze v plodovih teh porast fruktoze in glukoze. V okuženih plodovih je prišlo tudi do padca organskih kislin. Tako v živicah kot tudi v plodovih so bili prisotni derivati elagne kisline, flavanoli in flavonoli. V plodovih smo dodatno identificirali štiri različne antocianine. Ob primerjavi inficiranih in zdravih plodov so bile značilne razlike v vsebnosti posameznih fenolnih snovi iz različnih skupin. Predvsem so narasli derivati elagne kisline, flavonoli so v glavnem bili ob infekciji nižji, medtem ko se je vsebnost flavanolov in antocianov povečala z stopnjo infekcije. V živicah so derivati elagne kisline bodisi narasli ali padli, procianidini so v večini primerov padli, flavonoli pa narasli. Razlike so bile manj izražene kot v plodovih.

Ključne besede: *Colletotrichum nymphaeae*, fenolne spojine, obrambni mehanizem, organske kisline, sladkorji

ABSTRACT

INFLUENCE OF *Colletotrichum nymphaeae* (Pass.) AA INFECTION ON PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES IN STRAWBERRIES

The effect of *Colletotrichum nymphaeae* infection on the contents of sugars, organic acids, and individual phenolic compounds was investigated in strawberry cultivar 'Clery'. Primary metabolites were determined with the use of HPLC-RI-PDA and secondary metabolites further confirmed with HPLC-PDA-MS. *Colletotrichum nymphaeae* caused a decrease in sucrose and an increase in fructose and glucose in strawberry fruit. A significant decrease in the content of organic acids was recorded in infected fruit. Different forms of ellagic acid, flavanols and flavonols were identified in strawberry runners and fruit. In fruit additionally four anthocyanins were identified. Significant differences in individual phenolic compounds in strawberry fruit were detected at the beginning of the infection compared to non-infected fruit. Specifically, ellagic acids significantly increased, flavonols generally decreased, and

¹ asist. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana; E-mail: maja.mikulic-petkovsek@bf.uni-lj.si

² mag., inž. kmet., prav tam

³ asist. dr., prav tam

⁴ asist. dr., prav tam

⁵ prof. dr., prav tam

⁶ mag., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

⁷ dr., prav tam

⁸ izr. prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

flavanols and anthocyanins increased with the progression of infection. Similarly, some forms of ellagic acid increased and others decreased in infected runners, procyanidins generally decreased and flavonols, increased but the differences were much less prominent compared to the fruit.

Key words: *Colletotrichum nymphaeae*, defence mechanism, organic acids, phenolic compounds, sugars

1 UVOD

Bolezen črna pegavost jagod je takoj za glivo *Botrytis cinera* druga gospodarsko najpomembnejša bolezen pri jagodah. Povzroča jo gliva *Colletotrichum nymphaeae* in je glavna povzročiteljica antraknoz na jagodah. Znamenja okužbe z glivo se kažejo kot okrogle rjavočrne pege na dozorevajočih plodovih in kot nekroze na živicah in listnih pecljih rastline. Povzroča tudi listno pegavost ter venenje in propadanje mladih rastlin. Izredno velike probleme predstavlja v vlažnih letih (Damm in sod., 2012).

Rastline se na okužbo patogenov odzovejo s sintezo določenih fenolnih spojin, še posebej s fenolnimi kislinami in flavanoli. Fenolne kisline in konjugati elagne kisline preprečijo širitev patogena z lignifikacijo poškodovanih delov rastline (Treutter, 2006). Nekatere študije kažejo, da lahko fenolne spojine aktivno sodelujejo pri obrambi rastlin proti škodljivcem, glivam, bakterijam ali virusom (Mikulič-Petkovšek in sod., 2011; Rusjan in sod., 2012). Zaradi majhnega števila dovoljenih fungicidov, ki se lahko uporabljajo v pridelavi jagod, je ena od možnosti uspešnega boja proti antraknozi uporaba odpornih sort. Zato je bil naš namen poskusa poiskati možne povezave med boleznijo in vsebnostjo primarnih in sekundarnih metabolitov v rastlini skozi različne bolezenske stadije rastline. Izsledki raziskave bi omogočili vključitev določenih komponent fenolnih snovi, ki so pomembne pri obrambnem mehanizmu rastline na patogene, v različne programe križanj, z namenom dobiti sorte odporne proti antraknozi.

2 MATERIAL IN METODE

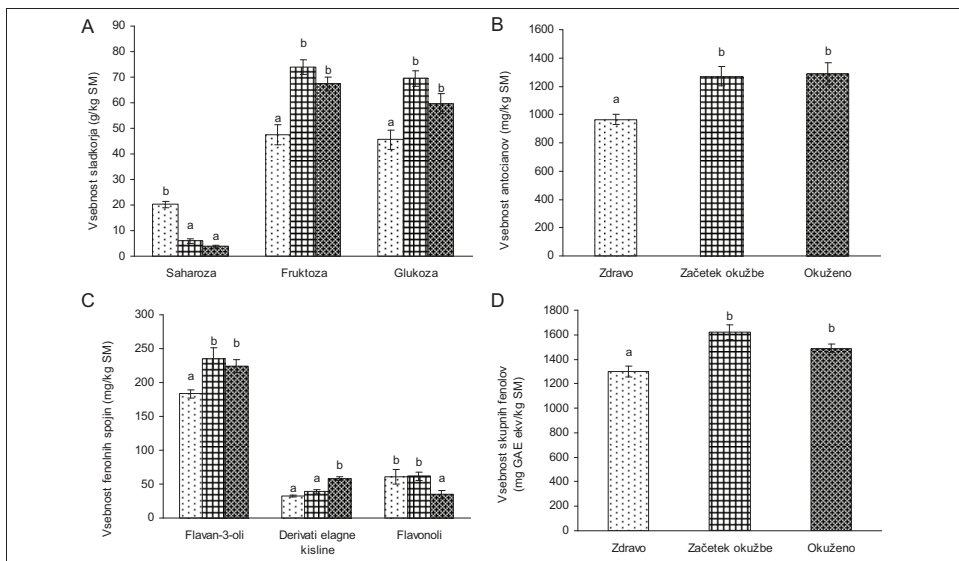
V poskus je bila vključena sorta jagode 'Clery'. Vzorce plodov smo nabrali v treh stadijih: zdravi plodovi, plodovi na katerih so bili znaki začetka okužbe z glivo *Colletotrichum nymphaeae* ter okuženi plodovi. Pri živicah smo vzorčili samo zdrave in okužene živice z omenjeno glivo. Plodove in živice smo nabrali 15. septembra 2011. Vzorci plodov so bili v pobrani v tehnološki zrelosti. Vzorce smo takoj zamrznili v tekočem dušiku in jih do začetka analiz shranili pri temperaturi - 20 °C.

Ekstrakcijo sladkorjev in organskih kislin smo izvedli po metodi (Mikulič-Petkovšek in sod., 2007) ter fenolov po metodi (Mikulič-Petkovšek in sod., 2010). Vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov smo analizirali na HPLC sistemu ter vsebnost skupnih fenolov spektrofotometrično (765 nm) po metodi s Folin-Ciocalteujevim reagentom (Singleton in sod., 1999). Podatke smo statistično obdelali s programom Statgraphic Plus 4.0. Uporabili smo enosmerno analizo variance ($p < 0,05$).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V plodovih jagod sta po vsebnosti glavna sladkorja fruktoza in glukoza, saharoza predstavlja do 15 % vseh sladkorjev kot poročajo tudi (Basson in sod., 2010). Okužba z glivo *Colletotrichum n.* je povzročila značilno povečanje fruktoze in glukoze v plodovih, obratno pa značilno zmanjšanje saharoze (slika 1 A). Ta slika se je odrazila tudi pri skupnih sladkorjih. Zdravi plodovi so imeli značilno najmanjše vsebnosti skupnih sladkorjev, njihova vsebnost se je povečala z začetkom infekcije, medtem ko so okuženi plodovi imeli statistično največje

vsebnosti skupnih sladkorjev. Njihova vsebnost se je z okužbo povečala za približno 15 %. Prevladujoči organski kislini sta v jagodah jabolčna in citronska kislina (99 % skupnih kislin). Šikimska in fumarna kislina sta zastopani le v sledovih. V vsebnosti citronske kisline ni bilo značilnih razlik med obravnavanji, so pa okuženi plodovi imeli značilno manj jabolčne kisline (rezultati niso prikazani).



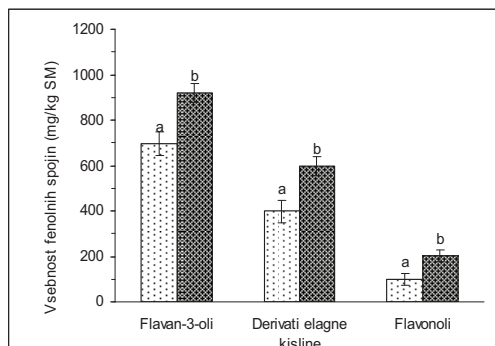
Slika 1: Vsebnost posameznih sladkorjev, fenolnih spojin po posameznih skupinah ter skupnih fenolov v zdravih in okuženih plodovih jagode z glivo *Colletotrichum nymphaeae* (v mg/kg sveže mase (SM))

□ zdravo ■ začetek okužbe ▨ okuženo

Figure 1: The content of individual sugars, phenolic groups and total phenolics in healthy and infected strawberry fruits with fungus *Colletotrichum nymphaeae* [in mg/kg fresh weight (FW)]

□ healthy ■ beginning of infection ▨ infected

Po vsebnosti so v plodovih jagod prevladujoče polifenolne spojine antociani. Glavna antociana sta pelargonidin-3-glukozid in pelargonidin-3-malonilglukozid. Z začetkom okužbe postane robno tkivo med zdravim in okuženim delom temnejše obarvano, kar gre verjetno pripisati intenzivni sintezi antocianov. Rezultati kažejo, da se je vsebnost skupnih antocianov v plodovih z okužbo značilno povečala (slika 1 B). Velik delež v živicah in plodovih jagod predstavljajo tudi flavan-3-oli. Analizirani je bil širok spekter procianidinov, to so predvsem dimeri in trimeri. Odziv rastline na okužbo se je odrazil z značilnim povečanjem flavan-3-olov v okuženem tkivu, tako v plodovih kot tudi v živicah (slika 1 C in 2). V živicah je bil katehin prevladujoči flavan-3-ol po vsebnosti. Tudi predhodne študije kažejo, da okužba z različnimi patogeni povzroči povečanje različnih flavan-3-olov, predvsem katehina in procianidinov (Mikulič-Petkovšek in sod., 2011; Rusjan in sod., 2012). Na ta način rastlina omeji oziroma zaustavi rast in širjenje glive. Podoben odziv rastline je opazen tudi pri skupini različnih derivatov elagne kisline, ki se prav tako izrazito povečajo ob okužbi (slika 1 C in 2).



Slika 2: Vsebnost posameznih sladkorjev, fenolnih spojin po posameznih skupinah ter skupnih fenolov v zdravih in okuženih živcih jagode z glivo *Colletotrichum nymphaeae* (v mg/kg sveže mase (SM))

□ zdravo ■ okuženo

Figure 1: The content of individual sugars, phenolic groups and total phenolics in healthy and infected strawberry runners with fungus *Colletotrichum nymphaeae* [in mg/kg fresh weight (FW)]

□ healthy ■ infected

408

Derivati elagne kisline so bili najštevilčnejši, saj je bilo določenih dvanajst različnih spojin elagne kisline. Od flavonolov smo določili sedem različnih snovi, največji delež predstavljata kempferol-3-glukuronid in kvercetin-3-glukuronid. Iz slike 1 C vidimo, da je okužba z glivo povzročila zmanjšanje skupnih flavonolov v plodovih in obratno značilno povečanje v živcih jagode (slika 2). Okužene živce so imele približno dvakrat višjo vsebnost skupnih flavonolov v primerjavi z zdravimi. Vsebnost skupnih fenolov je odraz vseh analiziranih posameznih fenolov ter predvsem flavan-3-olov in antocianov, ki zaradi njihove visoke vsebnosti največ prispevajo k skupnim fenolom v plodovih. Okužba z glivo *Colletotrichum n.* je povzročila približno 30 % višje vsebnosti skupnih fenolov v okuženem tkivu v primerjavi z zdravimi (Slika 1 D). Tudi druge raziskave kažejo, da se vsebnost skupnih fenolov v rastlinah zaradi napada patogenov značilno poveča (Mikulič-Petkovšek in sod., 2011; Rusjan in sod., 2012).

4 SKLEPI

Rezultati kažejo, da je okužba z glivo *Colletotrichum nymphaeae* povzročila spremembo primarnega in sekundarnega metabolizma. Odziv rastline se je odrazil z značilnim zmanjšanjem saharoze, jabolčne in citronske kisline ter flavonolov v plodovih jagode ter obratno povečanjem flavan-3-olov, derivatov elagne kisline in antocianov.

5 LITERATURA

- Basson, C.E., Groenewald, J.H., Kossmann, J., Cronje, C., Bauer, R., 2010. Sugar and acid-related quality attributes and enzyme activities in strawberry fruits: Invertase is the main sucrose hydrolysing enzyme. *Food Chemistry*, 121: 1156-1162.
- Damm, U., Cannon, P.F., Woudenberg, J.H.C., Crous, P.W., 2012. The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology*, 73: 37-113.
- Mikulič-Petkovšek, M., Slatnar, A., Štampar, F., Veberič, R., 2010. The influence of organic/integrated production on the content of phenolic compounds in apple leaves and fruits in four different varieties over a 2-year period. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 2366-2378.
- Mikulič-Petkovšek, M., Slatnar, A., Veberič, R., Štampar, F., Solar, A., 2011. Phenolic response in green walnut husk after the infection with bacteria *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. *Physiological Molecular Plant Pathology*, 76: 159-165.

- Mikulič-Petkovšek, M., Štampar, F., Veberič, R., 2007. Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*, 114: 37-44.
- Rusjan, D., Veberič, R., Mikulič-Petkovšek, M., 2012. The response of phenolic compounds in grapes of the variety 'Chardonnay' (*Vitis vinifera* L.) to the infection by phytoplasma Bois noir. *European Journal of Plant Pathology*, 133: 965-974.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. V: Packer, L. (ur.), *Oxidants and Antioxidants*, Pt A. Elsevier Academic Press Inc, San Diego, 1995: 152-178.
- Treutter, D., 2006. Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 4: 147-157.

ALLELOPATHY OF SOME IMPORTANT WEEDS IN HUNGARY

Gabriella KAZINCZI¹, Ferenc PÁL-FÁM², Erzsébet NÁDASY³, András TAKÁCS⁴,
József HORVÁTH⁵

^{1,2,5} Kaposvár University, Department of Botany and Plant Production, Kaposvár, Hungary
^{3,4,5} University of Pannonia, Institute for Plant Protection, Keszthely, Hungary

ABSTRACT

The change of weed flora of arable lands has been continuously followed in Hungary for more than 60 years. From the database of the Five National Weed Surveys the weed species detected in wheat, maize and on cereal stubbles are ranked in the order of their dominance. It is believed that allelopathy may play important role in their rapid spreading. This is especially true for invasive alien species (IAS), like *Ambrosia artemisiifolia*, *Sorghum halepense* etc. Out of these dominant weeds the allelopathic inhibitory effect only in case of a few weed species is not known. Based on the results of bioassay, pot and field experiments carried out in Hungary for more decades we can conclude the followings: Inhibitory effect of organic dissolvent plant extracts are generally stronger than that of water extracts. In bioassay laboratory experiments a dose –response relationship study is necessary, because the stronger inhibitory effect of the higher concentration extracts may be due not only to allelopathy but to the increased osmotic potential as well. In bioassays, inhibitory effect on seedling growth are generally stronger than that on germination rate. Inhibitory effect of allelochemicals greatly depends on donor, recipient (test) species, plant parts, the age of plant parts (living, dead), concentration and type of the dissolvents (water, organic) and physiological process affected (e.g. germination, growth). Bioassay, pot and field experiments generally give different results, suggesting that allelochemicals can be destroyed due to the biological decomposition with the time, especially under field conditions. Therefore in fields rather competition than allelopathy plays a greater role in plant-plant interactions. Today the term allelopathy has been extended, including not only plant-plant but – among others - plant-microorganism interactions also (e.g. some plant extracts can inhibit the virus concentration in the systemic plant hosts). Allelopathy is considered as an alternative way of biological control. Nevertheless an internationally excepted uniform standard method would be essential for allelopathic studies – similar to that of competition methods – because in the lack of this, results achieved in different places and in the different countries are not comparable.

Key words: plant-plant interaction, allelopathy, weeds, viruses

1 INTRODUCTION

The term allelopathy was used by Molish (1937) at the first time. Allelopathy is considered as a chemical interaction among higher plants, in which allelochemicals - released from the donor plants can greatly modify – generally inhibit - the development of the recipient (test) plants.

¹ PhD, Guba S. str. 40, H-7400 Kaposvár, Hungary

² PhD, *ibid.*

³ PhD, Deák F. str. 16.H-8361 Keszthely, Hungary

⁴ PhD, *ibid.*

⁵ Acad., PhD, *ibid.*

Based on Five National Weed Surveys in Hungary (Novák *et al.*, 2009) it is believed that the majority of the dominant arable weeds has allelopathic inhibitory effect. This fact can also contribute to their rapid spreading.

Today the term allelopathy has considerably broadened including not only plant-plant but plant – other organism (pathogens, pests etc.) as well. In earlier studies inhibitory effect of some plant extracts on the virus concentration in systemic host-virus relations was observed, while other substances considerably reduced the number of necrotic lesions in local-host virus relations (Kazinczi *et al.*, 2002; Takács *et al.*, 2004). Based on the results of the previous experiments, natural substances are not able to destroy viruses, therefore no viricides are available in the agricultural practice (Horváth, 1999). The reason of this is that viruses close strong biological unit with the plant host cell, therefore the death of viruses due to viricides coexists with the death of the host plants. In spite of that some natural and artificial substances are known to inhibit virus replication and cell- to cell movement (Gáborjányi and Tóbiás, 1986; Baranwal and Verma, 1997; Vivanco *et al.*, 1999; Macias *et al.*, 2002).

In this paper we summarize the most important results and conclusions of allelopathic research achieved in Hungary of the last 20 years. Result of some model experiments are also described here.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Bioassay experiments

Water extracts (earlier of alcoholic and acetic ones) were made from the fresh plant parts of some donor species. After grinding, 25 g fresh biomass was stirred into 100 ml distilled water and left for 24 hours. Then the mixtures were filtered and denoted as a stock solution, 2-, 5- and 10-fold dilutions. Double filter paper was kept in Petri dishes, thereafter 8-8- ml leachate was added to for each Petri dish. On the top of filter paper 100 seeds of some test plant species were germinated at 22 °C in incubator in four replicates. Germination extent was recorded daily until no germination occurred. The radicle length of *Lepidium sativum* was measured after 48 hours from the beginning of the experiments.

2.2 Pot experiments

Dried plant parts (0.5-0.9 kg) of the donor plants were mixed with 10 kg soil mixture of sand (pH: 6.96; humus: 0.27%) + peat (pH: 6.78, humus: 998%) in a ratio of 1:1. After 2-3 months of decomposition pots were filled with the soil mixture and sown with seeds of the test plants in 4-8 replicates. Pots filled a soil mixture without plant residues served as control.

In an other provocative experiments under glasshouse conditions systemic hosts of Óbuda pepper virus (ObPV) were treated weekly with the donor plant extracts mentioned above (see 2.1. chapter above) from their 2-4 leaf stages (BBCH: 12-14) until the end of experiments. At the same time recipient plants were mechanically inoculated with ObPV. The plant's reactions on virus infection were evaluated by DAS ELISA serological tests were used after Clark and Adams (1977) five weeks from the beginning of the experiments. At the same time shoot fresh weight of the recipient plants was also determined.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Bioassay experiments

It is generally believed that the inhibitory effect of plant extracts made with the use of organic solvents are stronger, as compared to that of water solutions (Figure 1). Generally under field

conditions the rainfall can dissolve effectively the inhibitory plant extracts from the shoots (Béres, 2011).

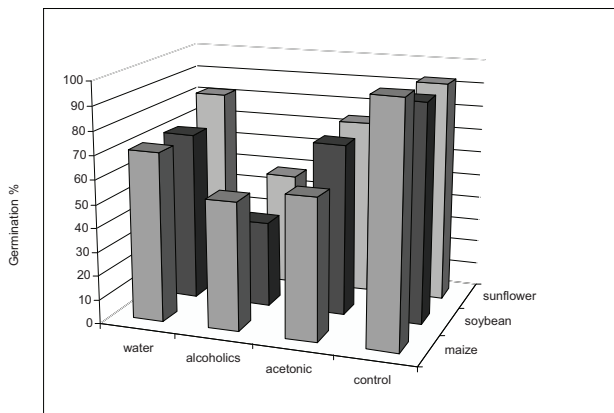


Figure 1: The effect of different extracts from *A. artemisiifolia* leaves on the germination of some crops in laboratory bioassay studies (after Béres *et al.*, 2002)

412

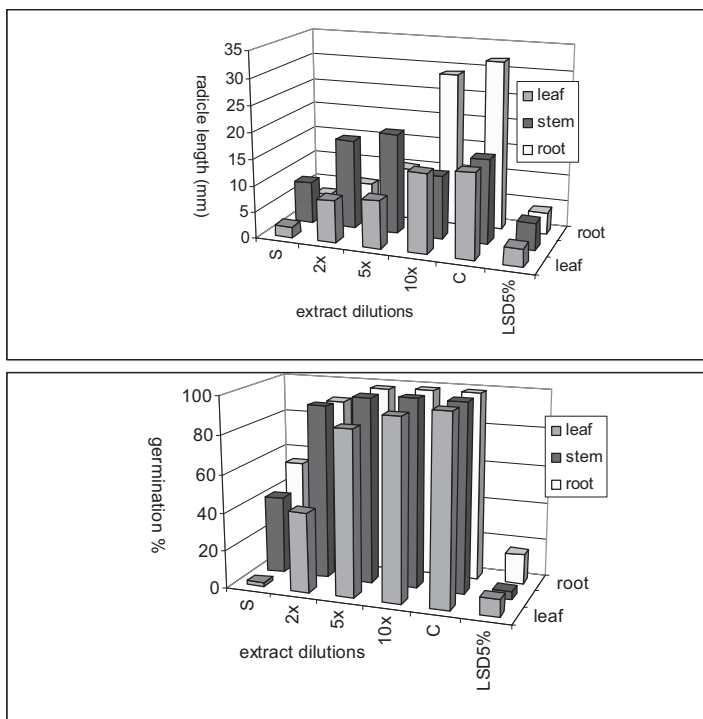


Figure 2: The effect of *Asclepias syriaca* water extracts on the radicle length (above) and germination % (down) of *Lepidium sativum* (S, stock solution; 2x=two-fold dilution; 5x=five-fold dilution; 10x=ten-fold dilution; C=control)

It is generally believed that inhibitory effect on radicle length is stronger, than that on germination. Beside this, the different plant parts (root, shoot, stem) also influenced the reaction of test plants (Figure 2).

3.2 Pot experiments

Based on the results of some experiments the effect of inhibitors on the growth of the test plants was stronger, than that on virus concentration. No correlations between inhibitory effect on the plant growth and virus concentrations could be observed (Figure 3).

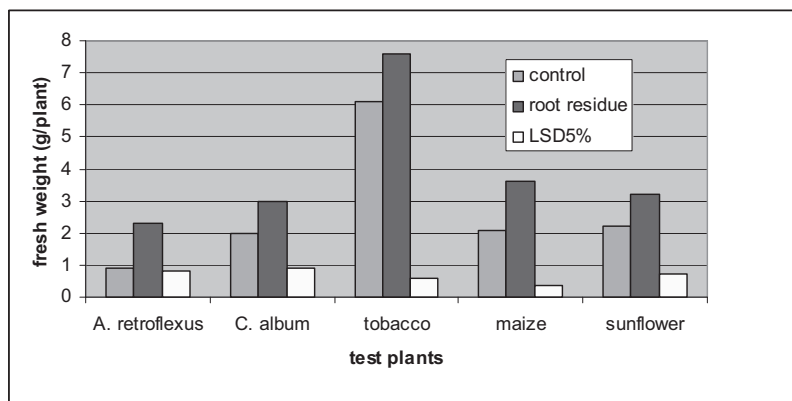


Figure 3: The effect of root residues of *Asclepias syriaca* on the biomass production of test plants

Water extracts which significantly retarded the biomass production of the test plants, did not influence considerably virus concentration and the opposite was also true: plant extracts with virus inhibitory effect did not influence significantly the growth of the test plants. e.g. *A. syriaca* root extract significantly reduced ObPV concentration in systemic host plants, but did not influence their fresh weight (Kazinczi *et al.*, 2005a,b). Nevertheless significant growth reduction was observed with other test plants due to the *A. syriaca* root residues (Kazinczi *et al.*, 1999) (Figure 3).

4 CONCLUSIONS

Based of our allelopathic research of some years (Mikulás *et al.*, 1990, Kazinczi *et al.*, 1991, 1997, 1999, 2001a,b, 2004a,b, 2005a,b 2007; Hunyadi *et al.*, 1998; Béres-Kazinczi 2000; Béres *et al.*, 2002; Suma *et al.*, 2002 Horváth *et al.*, 2006; Buzsáki *et al.*, 2008) we can conclude the followings:

- Inhibitory effect of organic dissolvent plant extracts are generally stronger than that of water extracts. In bioassay laboratory experiments a dose –response relationship study is necessary, because the stronger inhibitory effect of the higher concentration extracts may be due not only to allelopathy but to the increased osmotic potential as well. In bioassays, inhibitory effect on seedling growth are generally stronger than that on germination rate.
- Inhibitory effect of allelochemicals greatly depends on donor, recipient (test) species, plant parts, the age of plant parts (living, dead), concentration and type of the dissolvents (water, organic) and physiological target process observed.

- Bioassay, pot and field experiments generally give different results, suggesting that allelochemicals can be destroyed due to the biological decomposition with the time. Therefore it is believed that in fields rather competition than allelopathy plays a greater role in plant-plant interactions.
- Today the term allelopathy has been extended, including not only plant-plant but – among others - plant-microorganism interactions also.
- An internationally excepted uniform standard method would be essential for allelopathic studies.
- Allelopathy has considerable reserves for the agricultural practice which can be well fit into the integrated weed management systems.
- Inverse (promoting) effect of allelochemicals on some invasive plants (e.g. *Ambrosia artemisiifolia*) may have a potential to promote the weed's dominance under field conditions (Kazinczi *et al.*, 2008).

5 ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by the TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0038, TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0039 and TÁMOP-4.2.2./B-10/1-2010-0023 projects.

6 REFERENCES

- Baranwal, V.K. Verma, H.N. 1997. Characteristics of a virus inhibitor from the leaf extract of *Celosia cristata*. *Plant Pathology* 46: 523-529.
- Béres I. 2011. Allelopathy *In*: Hunyadi K., Béres I., Kazinczi G. (eds), *Weeds, weed biology and weed control*. Mezőgazda kiadó, Budapest pp. 308-322. (in Hungarian)
- 414 Béres, I., Kazinczi, G., Narwal, S.S. 2002. Allelopathic plants. 4. Common ragweed (*Ambrosia elatior* L. syn. *A. artemisiifolia*). *Allelopathy Journal* 9: 27-34.
- Béres, I., Kazinczi, G. 2000. Allelopathic effects of shoot extracts and residues of weeds on field crops. *Allelopathy Journal* 7: 93-98.
- Buzsáki, K., Kazinczi, G., Béres, I., Lehoczky, É. 2008. The allelopathic effect of yellow nutsedge (*Cyperus esculentus* L.) on cultivated plants and common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.). *Journal of Plant Diseases and Plant Protection Special Issue* 21: 327-332.
- Clark, MF, Adams, AN 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Viro.* 34: 475-483.
- Gáborjányi, R., Tóbiás, I. 1986. Inhibitors of virus infection and virus replication in plants. *Növénytermelés* 35, 139-146. (in Hungarian)
- Horváth J. 1999. *Plant Virology*. University of Pannonia, Georgikon Faculty of Agricultural Sciences, Keszthely. (in Hungarian)
- Horváth, J., Kazinczi, G., Takács, A., Torma, M., Kovács, A. 2006. Interaction between invasive weed species. *Cereal Research Communication* 34 (1): 489-492.
- Hunyadi, K., Kazinczi, G. and Lukács, D. 1998. Germination biology and allelopathy of *Iva xanthiifolia* Nutt. *Z. PflKankh. PflSchutz, Sonderh.* 16: 209-215.
- Kazinczi G., Béres I., Hunyadi K., Mikulás J. és Pölös E. 1991. A selyemmályva (*Abutilon theophrasti* Medic.) allelopatikus hatásának és kompetitív képességének vizsgálata. *Növénytermelés* 40: 321-331. (in Hungarian)
- Kazinczi G., Onofri, A., Szabó L., Béres I., Horváth J., Takács A. 2007. Phytotoxic effects of *Convolvulus arvensis* weed on crops. *Allelopathy Journal* 13, 179-194.
- Kazinczi, G., Béres, I. and Narwal, S.S: 2001a. Allelopathic plants. 1. Canada thistle [*Cirsium arvense* (L.) Scop]. *Allelopathy Journal* 8: 29-40.
- Kazinczi, G., Béres, I., Horváth, J., Takács, A.P. 2004a. Sunflower (*Helianthus annuus*) as recipient species in allelopathic reserach. *Herbologia* 5 (2): 1-9.
- Kazinczi, G., Béres, I., Mikulás, J. and Nádasy, E. 2004b. Allelopathic effect of *Cirsium arvense* and *Asclepias syriaca*. *Z. PflKrankh. PflSchutz Sonderh.* 19: 301-308.
- Kazinczi, G., Béres, I., Narwal, S.S. 2001b. Allelopathic plants. 3. Velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medic.). *Allelopathy Journal* 8, 179-188.

- Kazinczi, G., Béres, I., Onofri, A., Nádasy, E., Takács, A., Horváth, J., Torma, M. 2008. Allelopathic effects of plant extracts on common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.). Journal of Plant Diseases and Plant Protection Special Issue 21: 335-340.
- Kazinczi, G., Horváth, J., Béres, I., Takács, A.P., Lukács, D. 2002. The effect of pendimethalin (STOMP 330) on some host-virus relations. Z. PflKankh. PflSchutz, Sonderh. 18: 1093-1098.
- Kazinczi, G., Horváth, J., Takács, A.P., Béres, I., Gáborjányi, R., Nádasy, M. 2005a. The role of allelopathy in host-virus relations. Cereal Research Communications 33(1):105-108.
- Kazinczi G., Horváth J., Takács A.P. 2005b. Plant-plant and plant -virus interactions. 7th Slovenian Conference on Plant Protection, Zreče (Slovenia) 2005.pp.490-494.
- Kazinczi, G., Mikulás, J., Horváth, J., Torma, M. and Hunyadi, K. (1999): Allelopathic effects of *Asclepias syriaca* roots on crops and weeds. Allelopathy Journal 6: 267-270.
- Kazinczi, G., Mikulás, J., Hunyadi, K. and Horváth, J. 1997. Allelopathic effects of weeds on growth of wheat, sugarbeet and *Brassica napus*. Allelopathy Journal 4: 335-340.
- Macias, F.A., Vinolo, V.I., Oliveros, A., Galindo, J.C. 2002. New approach in allelopathy, challenge for the next millenium. 3rd World Congress on Allelopathy, Tsukuba (Japan), p.38.
- Mikulás, J., Váradi, Gy., Pölös, E. Kazinczi, G. and Béres, I. 1990. Allelopatische Erscheinungen und Untersuchungen bei einigen Unkrautern. Z. PflKankh. PflSchutz, Sonderh. 12: 265-277.
- Molish, H. 1937. Der Einfluss einer Pflanze auf die andere. Allelopatie. Fischer, Jena.
- Novák, R. Dancza, I., Szentey, L., Karamán, J. 2009. Arable Weeds of Hungary. Fifth National Weed Survey (2007-2008). Ministry of Agriculture and Rural Development, Budapest, Hungary.
- Suma, S., Ambika, S.R., Kazinczi G., Narwal, S.S. 2002. Allelopathic plants.6.*Amaranthus* spp. Allelopathy Journal 10: 1-12.
- Takács, A., Horváth, J., Mikulás, J. 2004. Inhibitory effect of *Chelidonium majus*. Z. PflKrankh. PflSchutz Sonderh. 19: 285-292.
- Vivanco, J.M., Querci, M., Salazar, L.F. 1999. Antiviral and antiviroid activity of MAP-containing extracts from *Mirabilis jalapa* roots. Plant Dis. 83: 1116-1121.

UČINKOVITOST BIOHERBICIDOV OCETNE IN PELARGONSKE KISLINE ZA ZATIRANJE PELINOLISTNE AMBROZIJE (*Ambrosia artemisiifolia* L.)

Robert LESKOVŠEK¹, Silvo ŽVEPLAN², Andrej SIMONČIČ³

^{1,3} Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za kmetijsko ekologijo in naravne vire, Ljubljana

² Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Žalec

IZVLEČEK

Biotično zatiranje plevela, še posebej uporaba bioherbicidov se je pokazala kot možna alternativa uporabi sintetičnih herbicidov. Poleg uporabe patogenih bakterij in gliv, ki se uporabljajo predvsem za vrstno specifično varstvo rastlin, so z raziskavami v zadnjih letih ugotovili, da obstaja precej naravnih spojin in rastlinskih izvlečkov, ki imajo herbicidno delovanje. Kot rezultat intenzivnih raziskav je bilo v zadnjem obdobju v nekaterih državah registrirano precej biotičnih pripravkov in številni med njimi so dostopni tudi na tržišču. V letu 2012 smo na Kmetijskem inštitutu Slovenije izvedli lončni poskus, kjer smo testirali učinkovitost bioherbicidov ocetne in pelargonske kisline na pelinolistno ambrozijo. Vznikle rastlinice ambrozije smo po kalitvi razredčili na eno rastlino na lonec. Pripravka smo uporabili v dveh fenofazah razvoja ambrozije (BBCH 14-16 in BBCH 21-25) ter petih koncentracijah (20 %, 30 %, 45 %, 67 % in 100 %). Oba pripravka smo uporabili tudi v deljeni (split) aplikaciji pri čemer smo uporabili polovico registriranega odmerka v 10-dnevnem presledku. Po nanosu smo vizualno trikrat ocenjevali učinkovitost delovanja in po 4 tednih po uporabi izmerili še končni pridelek suhe snovi. Uporaba velikih odmerkov tako ocetne kot pelargonske kisline je pokazala visoko učinkovitost v zgodnji fenofazi razvoja ambrozije. Z manjšanjem odmerka se je tudi učinkovitost delovanja na ambroziji močno zmanjšala. Podobno znižanje učinkovitosti smo ugotovili tudi v primeru, ko smo pripravka uporabili v kasnejši fenofazi. V primerjavi z ocetno kislino se je pelargonska kislina pokazala kot bolj učinkovita, še posebej pri manjših odmerkih. Deljena aplikacija pripravka je povečala učinkovitost pri obeh pripravkih, kar se je močneje izrazilo pri uporabi v kasnejši razvojni fazi ambrozije.

Ključne besede: pelinolistna ambrozija, bioherbicidi, učinkovitost

ABSTRACT

EFFICACY OF BIOHERBICIDES ACETIC AND PELARGONIC ACID FOR COMMON RAGWEED (*Ambrosia artemisiifolia* L.) CONTROL

Among biological weed management, use of bioherbicides is a possible alternative method to synthetic herbicides for weed control. Beside fungal and bacterial pathogen control agents for target plant species control, current research has demonstrated that several natural compounds and plant extracts have herbicidal effects. Furthermore, research efforts resulted in development of several weed biocontrol products which are already registered and commercially available in some countries. In 2012 a pot experiment was conducted at Agricultural Institute of Slovenia to test the efficacy of bioherbicides, acetic and pelargonic acid, for ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) control. Ragweed was sown in the pots and thinned to one plant per pot after germination. Plants were treated at two growth stages

¹ dr., univ. dipl. ing. kmet., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

² univ. dipl. ing agr., Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec

³ dr., univ. dipl. ing agr., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

(BBCH 14-16, BBCH 21-25) with five dosages (20 %, 30 %, 45 %, 67 % and 100 %). Both bioherbicides were tested also in split application, where half rate of registered dose was applied in 10 day time interval between two consecutive treatments. Three visual assessments were performed after application and final dry matter data was collected 4 weeks after application. Application of high doses acetic and pelargonic acid provided sufficient control, when ragweed was treated at early growth stage. However, ragweed control was reduced, when lower doses of acetic and pelargonic acid were applied. Similar decrease of efficacy was observed at higher growth stage of bioherbicide application. Compared to acetic acid, pelargonic acid displayed greater efficacy, when lower doses were applied, regardless of ragweed growth stage at application time. Split application increased efficacy in case of both herbicides, particularly when bioherbicides were applied at higher ragweed growth stage.

Key words: common ragweed, bioherbicides, efficacy

1 UVOD

Biotično zatiranje škodljivih organizmov (plevelov, bolezni in škodljivcev) temelji na vnosu njihovih naravnih sovražnikov v obliki insektov, uporabi fitopatogenih organizmov ter njihovih biotoksinov. Predvsem v ekološki pridelavi je biotično zatiranje lahko učinkovita rešitev za vzdrževanje škodljivcev, bolezni in plevelov pod pragom njihove škodljivosti in bi ga lahko vključili med osnovne ukrepe kot so kolobar (Cooke, 1988). Kljub temu, da so bili pristopi pri vpeljevanju in uporabi biotičnih agensov dobro opisani (Wapshere *et al.*, 1989), je kljub precejšnjim raziskovalnim naporom njihova uporaba še vedno precej omejena. Zabeleženi so bili tako primeri uspehov kot tudi neuspehov pri njihovi implementaciji širom po svetu (Crawley, 1989). Tudi v Evropi je bil narejen seznam tarčnih plevelnih vrst in strategija integracije biotičnega zatiranja (Müller-Schärer *et al.*, 2000), vendar se je sama uporaba izkazala kot precej težavna. Posebej obetavna se zdi potencialna raba bioagensov za zatiranje plevelov (Liebman in Davis, 2000). V zadnjem času pa so se raziskave osredotočile na biološko zatiranje invazivnih vrst, kjer je bilo vložena veliko raziskovalnih naporov (Gerber *et al.*, 2011).

Fitopatogeni mikroorganizmi in mikrobní fitotoksini so uporabni za biološko zatiranje plevela podobno kot konvencionalni herbicidi (Boyetchko *et al.*, 2002; Boyetchko in Peng, 2004). Bioherbicidi bodo v prihodnosti igrali pomembno vlogo kot dopolnilni ukrep pri strategijah integriranega zatiranja škodljivih organizmov (Hoagland *et al.*, 2007), in ne kot nadomestilo za konvencionalno uporabo herbicidov ali drugih strategij zatiranja plevelov (Singh *et al.*, 2006).

Prednosti bioherbicidov so predvsem visoka tarčna specifičnost, zaradi hitre razgradnje majhen vpliv na neciljne organizme in ljudi in njihova učinkovitost pri zatiranju populacij odpornih na fitofarmaceutska sredstva. Med slabosti pa lahko izpostavimo predvsem tehnološke ovire pri proizvodnji, manipulaciji in uporabi ter njihove biotične in okoljske omejitve v smislu selektivnosti, ki še vedno preprečujejo njihovo širšo uporabo.

Namen naše raziskave je bil ugotoviti kako učinkoviti sta organski kislini, pelargonska in očetna kislina, pri zatiranju pelinolistne ambrozije v različnih koncentracijah in fenofazah razvoja te rastline.

2 MATERIAL IN METODE

V letu 2012 je bil na Kmetijskem inštitutu Slovenije opravljen lončni poskus. Poskus je bil postavljen po sistemu naključnih blokov v 4 ponovitvah. Polovico loncev v poskusu smo posejali 4. maja, preostalo polovico loncev pa 18. maja 2012. Seme ambrozije smo sejali v mešanico šote (70 %), perlita (10%), vermikulita (10 %) in peska (10 %) in po vzniku

razredčili na eno rastlino v loncu. Lonci so bili celotno obdobje rasti namakani in dvakrat pognojeni z Hoaglandovo raztopino, vsak lonec je prejel 200 mL raztopine. V poskusu smo uporabili bioherbicide očetno kislino (Celaflor 102 g/L) in pelargonsko kislino (Finalsan 186,7 g/L) v naslednjih odmerkih: kontrola - (0 %), 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, 100 % registriranega odmerka, pri čemer je bil:

- 100 % odmerek Finalsan - pelargonske kisline 16,6 ml/m²
- 100 % odmerek Celaflor - očetne kisline 90 ml/m².

Bioherbicide v različnih odmerkih smo uporabili v razvojni fenofazi ambrozije BBCH 14-16 (4-6 listov) pri poznejši setvi in BBCH 21-25 (12-14 listov), pri zgodnejši setvi. Priprava smo uporabili na dva načina. Predpisan odmerek smo nanесли enkratno dne 28.6. 2012 ali pa v dveh polovičnih odmerkih v presledku 10 dni, pri obravnavanjih z deljeno uporabo.

Vizualne ocene so bile opravljene po EPPO smernicah, kjer smo ocenili učinkovitost delovanja pripravkov, merili svežo maso rastlin, BBCH razvojni stadij ter število in dolžino poganjkov smo v treh terminih, in sicer:

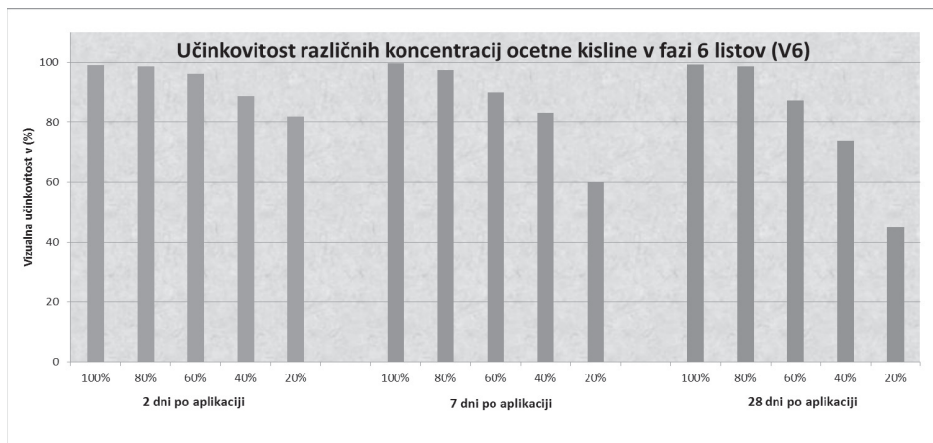
- 2 dni po uporabi
- 7 dni po uporabi
- 28 dni po uporabi

Učinkovitosti bioherbicidov smo primerjali z analizo variance (ANOVA) in Post-hoc LSD testom pri $P \leq 0,05$.

3 REZULTATI Z RAZPRAVO

418

Rezultati učinkovitosti očetne kisline nakazujejo, da je le-ta delovala zelo dobro, ko je bila uporabljena v zgodnji fenofazi razvoja ambrozije (BBCH 16; 6 listov). Pri uporabi polnega in 80 % odmerka smo tudi po 4 tednih ugotovili zelo dobro kontrolo, saj je bila povprečna učinkovitost 99,2 %. Z zniževanjem odmerka je tudi učinkovitost padla in je 4 tedne po uporabi pri 20 % uporabljeni koncentraciji znašala le 45 % (slika 1).



Slika 1: Povprečna učinkovitost očetne kisline po 2, 7 in 28 dneh v fenofazi BBCH 14-16 (V6)

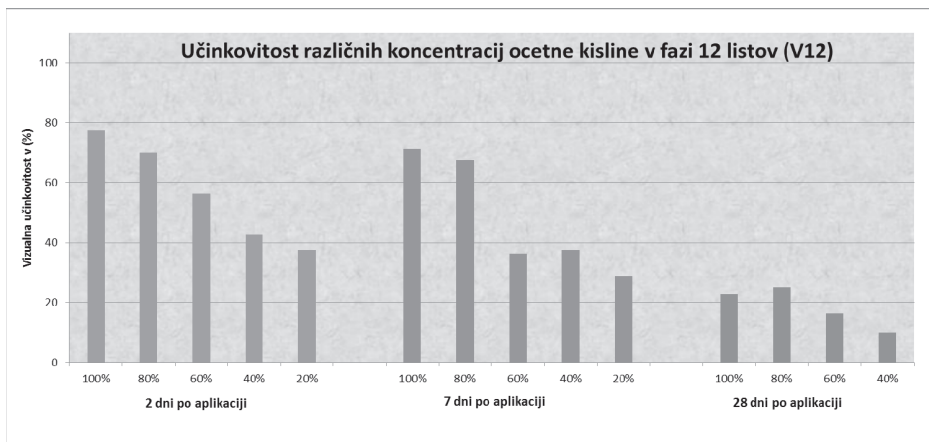
Pelargonska kislina je podobno kot očetna pokazala popolno kontrolo, kadar smo jo uporabili v zgodnji fenofazi. Za razliko od očetne kisline, pri uporabi znižanih odmerkov pelargonske kisline tudi po 4 tednih učinkovitost ni padla in je znašala 100 % (slika 2).



Slika 2: Povprečna učinkovitost pelargonske kisline po 2, 7 in 28 dneh v fenofazi BBCH 14-16 (V6)

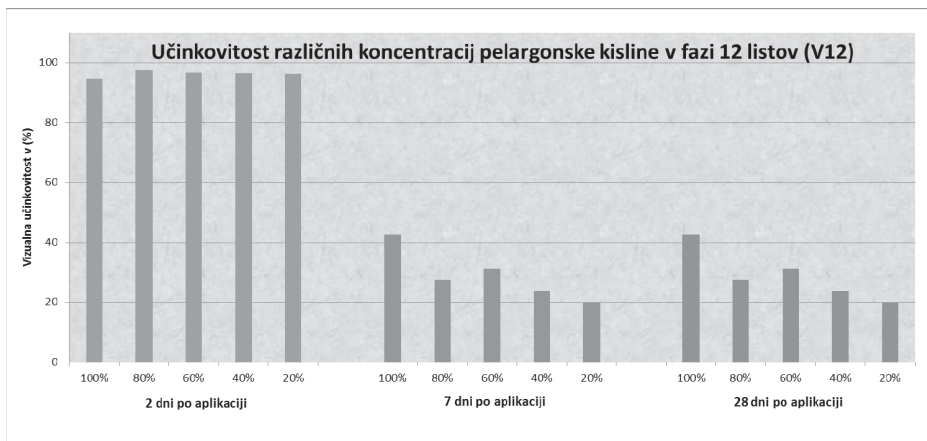
Naši rezultati so pokazali statistično značilne razlike med razvojnimi stadiji na učinkovitost oetne kisline ($P \leq 0.001$). Pri uporabi oetne kisline v poznejšem stadiju razvoja je učinkovitost močno upadla v primerjavi z zgodnjim stadijem in je znašala 2 dni po uporabi pri polnem odmerku oetne kisline le 77 % (slika 3).

419



Slika 3: Povprečna učinkovitost oetne kisline 2, 7 in 28 dneh v fenofazi BBCH 21-25 (V14-V16)

Tudi pelargonska kislina je 4 tedne po uporabi pokazala slabšo učinkovitost na pelinolistno ambrozijo pri višjem razvojnem stadiju, medtem ko je 2 dni po nanosu učinkovitost tudi pri najnižjem odmerku znašala visokih 96 % ($P \leq 0,001$) (slika 4). Ugotovili smo tudi, da je deljena (split) uporaba statistično značilno povečala učinkovitost pri obeh pripravkih ($P \leq 0,001$) (podatki niso prikazani).



Slika 4: Povprečna učinkovitost pelargonske kisline 2, 7 in 28 dneh v fenofazi BBCH 21-25 (V14-V16)

4 SKLEPI

Rezultati naše raziskave so pokazali, da tako očetna kot pelargonska kislina dobro učinkujeta na pelinolistno ambrozijo v zgodnjih stadijih razvoja (BBCH 14-16; 6 listov). Zniževanje odmerkov je poslabšalo učinkovitost predvsem pri očetni kislini, medtem ko je pelargonska kislina dobro delovala tudi pri nizkih odmerkih. Deljena aplikacija pripravka je povečala učinkovitost pri obeh pripravkih, kar se je izraziteje pokazalo pri uporabi v kasnejši razvojni fazi ambrozije.

Bioherbicidi ne bodo bistveno zmanjšali niti rešili vseh okoljskih in drugih težav povezanih z rabo sintetičnih herbicidov kot so npr. pojav odpornosti plevelov na določene aktivne snovi. Njihova vloga je predvsem kot dodatno orodje v uspešnih strategijah integriranega varstva rastlin in v nadaljevanju dela pri odkrivanju novih fitotoksičnih spojin z novimi kemijskimi ali molekularnimi tarčnimi mesti delovanja. Raziskave s tega področja so pomembne tudi zaradi razumevanja interakcij med mikroorganizmi in rastlinami (plevela in gojenih rastlin), ki bi vodile v odkritje novih fitopatogenih mikroorganizmov in mikrobnih fitotoksinov potencialno uporabnih kot bioherbicidi.

V našem poskusu se je pokazalo, da očetna in pelargonska kislina izkazujeta močan herbicidni učinek, ki pa je kratkotrajen. Uporabljena pripravka namreč delujeta le kontaktno, brez rezidualnega učinka, zato je lahko dobro učinkovitost možno doseči le z večkratno uporabo.

5 ZAHVALA

Raziskavo je financirala Evropska Komisija v okviru projekta EC DG Environment (Complex research on methods to halt the Ambrosia invasion in Europe) – HALT AMBROSIA. Za pomoč pri izvedbi poskusa velja zahvala vsem sodelavcem in tehničnemu osebju Kmetijskega inštituta Slovenije

6 LITERATURA

Boyetchko S.M., Peng G. 2004. Challenges and strategies for development of mycoherbicides. V: Fungal Biotechnology in Agricultural, Food, and Environmental Applications (ur. Arora D.K.). USA, NewYork, Marcel Dekker: 11–121.

- Boyetcho S.M., Rosskopf E.N., Caesar A.J., Charudattan R. 2002. Biological weed control with pathogens: search for candidates to applications. V: Applied Mycology and Biotechnology, Vol. 2 (ur. Khachatourians G.G., Arora D.K.). Elsevier, Amsterdam: 239-274.
- Cooke R. J. 1988. Biological control and holistic plant-health care in agriculture. American Journal of Alternative Agriculture, 3 (2/3): 51-62.
- Crawley M. J. 1989. The success and failures of weed biocontrol using insects. Biocontrol News and Information, 10: 213-223.
- Gerber E., Schaffner U., Gassmann A., Hinz H.L., Seier M., Müller-Schärer H. 2011. Prospects for biological control of *Ambrosia artemisiifolia* in Europe: learning from the past. Weed Research, 51: 559–573.
- Hoagland R.E., Weaver M.A., Boyette C.D. 2007. *Myrothecium verrucaria* fungus; A bioherbicide and strategies to reduce its non-target risks. Allelopathy Journal, 19 (1): 179-192.
- Liebman M., Davis A. S. 2000. Integration of soil, crop and weed management in low-external-input farming systems. Weed Research, 40: 27-47.
- Müller-Schärer H., Scheepens P. C., Greaves M.P. 2000. Biological control of weeds in European crops: recent achievements and future work. Weed Research, 40: 83–98.
- Powell R. 1990. The role of spatial pattern in the population biology of *Centaurea diffusa*. Journal of Ecology, 78(2): 374–388.
- Singh H.P., Batish D.R., Kohli R.K. 2006. Handbook of Sustainable Weed Management. Food Products press. Binghamton, NY: 7-20.
- Wapshere A.J., Delfosse E.S., Cullen J.M. 1989. Recent developments in biological control of weeds. Crop Protection, 8: 227-50.

PRVI REZULTATI VZORČENJA POTENCIALNIH NARAVNIH SOVRAŽNIKOV JAPONSKEGA DRESNIKA (*Fallopia japonica* [Houtt.] Ronse Decraene) V SLOVENIJI

Stanislav TRDAN¹, Žiga LAZNIK²

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

IZVLEČEK

V letu 2012 smo na približno 40 lokacijah v Sloveniji preučevali zdravstveno stanje japonskega dresnika, da bi ugotovili, ali se z omenjeno invazivno rastlinsko vrsto hranijo rastlinojedi organizmi. Obenem smo na listih dresnika ugotavljali tudi pojav različnih simptomov, kot posledica delovanja povzročiteljev bolezni in abiotičnih dejavnikov. Oglede smo - večinoma ob vodotokih, v manj primerih pa tudi na drugih tipih ruderalnih zemljišč - izvedli v štirih terminih. 16. julija, ob prvem vzorčenju, smo zdravstveno stanje japonskega dresnika preučevali na obrežjih Save na relaciji Ljubljana - Litija - Boštanj - Krško in ob reki Krki med Kostanjevico na Krki in Novim mestom. Najobsežnejše poškodbe (izjede) na listih smo ugotovili v Zgornjem Logu ob Savi, kjer so bili listi na spodnji tretjini rastlin objedeni od polža *Succinea putris*. V drugem terminu (25. julij) smo zdravstveno stanje dresnika preučevali na obrežjih Kamniške Bistrice, Drete, Mekinjščice in Savinje na relaciji Domžale - Kamnik - Gornji Grad - Celje - Ljubljana, 7. avgusta, v tretjem terminu ocenjevanja, pa smo si isti cilj zadali na obrežjih Save in Sore na relaciji Medvode - Kranj - Lesce - Bled - Bohinj. Zadnje vzorčenje smo 21. avgusta opravili ob rekah Drava, Pesnica in Mura na relaciji Maribor - Ptuj - Ormož - Murska Sobota - Lenart. Na večini vzorčnih mest na dresniku nismo ugotovili izrazitih poškodb ali simptomov, na več lokacijah po vsej državi pa smo na listih opazili drobne vijolične pege (ki pa niso bile povezane s pospešenim rumenenjem listov), na katerih pa nismo našli povzročitelja bolezni in so verjetno odraz delovanja kakšnega od abiotičnih dejavnikov. Izpostaviti velja tudi najdbo dresnika z značilnimi belimi pegami na listih (maj, Rožna dolina v Ljubljani), v katerih pa z elektronsko mikroskopijo ni bilo dokazanih virusov in viroidov. Ugotavljamo, da japonski dresnik po skoraj 100 letih pojavljanja v Sloveniji še nima učinkovitega naravnega sovražnika ali patogena, zato velja z namenom omejitve njegovega širjenja resno preučiti možnost vnosa bolšice *Aphalara itadori* Shinji, naravnega sovražnika, ki izvira iz Japonske. V tej zvezi bi bilo najprej potrebno preučiti bionomijo tega biotičnega agensa v razmerah Slovenije, zlasti njeno zmožnost preživetja zime ter njeno potencialno neciljno delovanje na sorodnike japonskega dresnika.

Ključne besede: japonski dresnik, naravni sovražniki, biotično varstvo rastlin, načrtno vzorčenje, Slovenija

ABSTRACT

FIRST RESULTS ON THE MONITORING OF POTENTIAL NATURAL ENEMIES OF JAPANESE KNOTWEED (*Fallopia japonica* [Houtt.] Ronse Decraene) IN SLOVENIA

¹ prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² doc. dr., prav tam

In 2012, the health status of Japanese knotweed was established in about 40 locations in Slovenia with the aim to determine the potential occurrence of phytophagous organisms of invasive plant species mentioned. At the same time we monitored different symptoms on the leaves of the plants caused by pathogens and abiotic factors. The monitoring was performed in four dates, in most cases near the rivers, but some assessments were also done in other types of ruderal lands. On July 16, on the day of the first sampling, the health status of the Japanese knotweed was investigated on the banks of Sava river between Ljubljana and Krško and near the Krka river from Kostanjevica na Krki to Novo mesto. The largest injuries on the leaves was recorded in Zgornji Log near the Sava river, where the holes were caused by the snail *Succinea putris*. At the second date of the monitoring (July 25), the health status of Japanese knotweed was studied on the banks of the rivers Kamniška Bistrica, Dreta, Mekinjščica and Savinja between Domžale and Celje, while the third assessments were performed on August 7 on the banks of the rivers Sava and Sora between Medvode and Bohinj. The last monitoring was done on August 21 between Maribor and Murska Sobota on the streams of rivers Drava and Mura. At the majority of the sampling locations we did not established any distinctive injuries or symptoms on the leaves of the Japanese knotweed. On some locations in different parts of Slovenia we noticed small purple spots (they were not connected with the faster yellowing of the leaves), on which we did not find any pathogens, therefore they are probably the consequence of some of the abiotic factors. It is important to mention the record of the Japanese knotweed with characteristic white spots (May, Rožna dolina in Ljubljana), on which using electron microscopy neither viruses nor viroids were confirmed. We established that almost 100 years after its introduction to Europe the Japanese knotweed still does not have any effective natural enemy or pathogen in our country, for that reason it should be important to study the possibility of introduction the psyllid *Aphalara itadori* Shinji, its biological control agents from Japan, to diminish the spreading of this weed. In this context it would be necessary to investigate the bionomics of the psyllid, especially the possibility of its overwintering and its potential non-target effect to relatives of the Japanese knotweed.

423

Key words: Japanese knotweed, natural enemies, biological control, monitoring, Slovenia

1 UVOD

Japonski dresnik (*Fallopia japonica* [Houtt.] Ronse Decraene) je hitro rastoča tujerodna širokolistna plevelna vrsta, ki je zaradi njene velike konkurenčnosti za prostor uvrščena v skupino najpomembnejših invazivnih organizmov v Evropi. Na Stari celini so japonski dresnik začeli saditi v vrtovih in parkih kot okrasno rastlino, in sicer iz potomcev rastline, ki so jo leta 1823 iz Japonske prinesli Nizozemci (Synge, 1956; Beerling *et al.*, 1993). Rastlina najraje naseljuje zmerno vlažna rastišča, najpogosteje ob rekah in potokih, najhitreje pa poseli ruderalna rastišča. V Sloveniji so japonski dresnik prvič opazili v začetku 20. stol. v okolici Celja. Strgar pa je poročal (1981, 1982) o njegovem širjenju v Sloveniji in naštel že več kot 100 nahajališč, raztresenih ob Dravi, Meži, Sotli, Savinji in Savi s pritoki. V Pomurju, Slovenskih Goricah, Halozah in v okolici Gorice se je ta invazivna vrsta razširila šele v zadnjih 20 letih (Jogan, 2006), že več desetletij pa se uspešno širi po Ljubljanski kotlini. Poleg japonskega dresnika v Sloveniji uspevajo tudi nekatere druge vrste iz rodu *Fallopia*, pri čemer tudi grmasti slakovec (*F. baldschuanica* [Regel] Holub), sahalinski dresnik (*F. sachalinensis* [F. Schmidt] Ronse Decraene) in češki dresnik (*F. x bohemica* [Chrtěk & Chrtkova] J. P. Bailey) spadajo med invazivne tujerodne vrste (Strgulc-Krajšek in Jogan, 2011).

Zatiranje japonskega dresnika in omenjenih sorodnih vrst je zelo težavno zaradi podzemnih stebel, iz katerih poganjajo novi poganjki. Mehansko odstranjevanje nadzemskih delov dresnika s košnjo je le začasna rešitev, saj plevela na ta način ne zatremo (Shaw *et al.*, 2009).

Beerling *et al.* (1993) celo navajajo, da s košnjo spodbudimo neželjeno tvorbo novih poganjkov. Kljub temu, da nekateri strokovnjaki kot edino možno metodo zatiranja japonskega dresnika navajajo košnjo v kombinaciji s kemičnim zatiranjem (Child *et al.*, 1992; Kabat *et al.*, 2006), pa se je tudi tovrstna metoda v številnih primerih izkazala za neučinkovito (Zemljič-Urbančič in Škerlavaj, 1999).

Zaradi omenjenih dejstev sta Holden in Fowler (1992) ter številni drugi strokovnjaki prepričani, da bo na dolgi rok edina možna rešitev za zmanjševanje gospodarskega pomena japonskega dresnika njegovo biotično zatiranje z vnosom naravnega sovražnika iz okolja, od koder izhaja omenjena invazivna vrsta. S poskusi v tej smeri so leta 2003 začeli v Veliki Britaniji in ugotovili, da ima v njegovi domovini japonski dresnik 180 naravnih sovražnikov; le bolšici *Aphalara itadori* Shinji (Homoptera: Psyllidae) pa pripisujejo možnost za uspešno biotično zatiranje japonskega dresnika v Evropi. Ta žuželka ima izjemno ozek krog gostiteljskih rastlin, zato bi bil njen vpliv na druge, tako gojene kot samonikle, rastlinske vrste majhen. V Sloveniji bi lahko težavo predstavljala tudi vprašljiva prezimitev tega naravnega sovražnika, saj so podnebne razmere v njegovi domovini, na Japonskem (Peel *et al.*, 2007), bolj mile kot pri nas. Prav tako nekateri niso naklonjeni vnosu tujerodnih organizmov, saj obstaja določena verjetnost, da se v novem okolju takšni organizmi ne bodo razvijali in hranili le na želenem gostitelju, ampak bodo napadli tudi druge rastlinske vrste ali izpodrinili domorodne naravne sovražnike.

Tudi zato je bila doslej v samostojni Sloveniji v okviru klasičnega biotičnega varstva vnesena le ena koristna vrsta, plenilsko-parazitoidna osica *Neodryinus typhlocybae* Ashmead, ki je uspela (sama ali v povezavi z domorodnimi naravnimi sovražniki in drugimi ukrepi) uspešno zmanjšati številčnost medečega škrzatka (*Metcalfa pruinosa* Say) (Žezlina *et al.*, 2001). Menimo, da so se v Sloveniji v zadnjih letih močno razširili nekateri škodljivci, katerih številčnost bi bilo lahko kmalu po vnosu dovolj uspešno omejiti s tujerodnimi naravnimi sovražniki. Med omenjenimi naj izpostavimo zlasti kostanjevo šiškarico (*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu), ki je od vnosa v našo državo leta 2006 do danes močno napadla in poškodovala že skoraj vsa drevesa žlahtnega kostanja. Prepričani smo, da bi pravočasen vnos njenega naravnega sovražnika, parazitoidne osice *Torymus sinensis* Kamijo, v določeni meri vplival na počasnejše širjenje in manjšo škodljivost te zelo škodljive žuželke (Kos in Trdan, 2010).

Ker tudi v prihodnje pri nas ne pričakujemo manj zapletenih postopkov pri implementaciji klasičnega biotičnega varstva, na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo precej strokovno-raziskovalnih aktivnosti namenjamo iskanju domorodnih naravnih sovražnikov, ki bi jih bilo mogoče v okviru biotičnega zatiranja vključiti v okoljsko sprejemljive načine pridelave živeža, krme in okrasnih rastlin. V tej zvezi smo v letu 2012 v Sloveniji na japonskem dresniku vzorčili njegove škodljive organizme, z namenom najdbe vrste ali vrst, s katerimi bi bilo mogoče to invazivno vrsto načrtno omejevati v širjenju in škodljivosti.

2 MATERIALI IN METODE

V letu 2012 smo na okrog 40 lokacijah v Sloveniji, predvsem ob rekah Drava, Pesnica, Mura, Sava, Sora, Sava Dolinka, Sava Bohinjka, Krka, Kamniška Bistrica, Dreta in Savinja, z namenom najdbe morebitnih avtohtonih naravnih sovražnikov (škodljivih organizmov japonskega dresnika), ki bi se hranili z japonskim dresnikom (ali ga okuževali), preučevali zdravstveno stanje omenjene invazivne rastlinske vrste. V preglednici 1 so navedeni datumi in lokacije vzorčenja ter zdravstveno stanje japonskega dresnika, na sliki 1 pa so prikazane lokacije vzorčenja.

Poškodbe in bolezenska znamenja na japonskem dresniku smo fotografirali, liste, na katerih smo ugotovili vijolične pege, pa smo prenesli v Laboratorij za fitomedicino na Biotehniški

fakulteti, z namenom identifikacije povzročitelja. Nekaj polžev, ki smo jih na lokaciji Zg. Log slika 1) smo poslali na identifikacijo prof. dr. W. Symondsonu in dr. B. Rowsonu v Wales (Cardiff University).

Že v maju pa smo na listih japonskega dresnika v Rožni dolini v Ljubljani našli zanimive bele pege na listih. Liste smo poslali na analizo na Nacionalni inštitut za biologijo v Ljubljani, kjer pa jim z elektronsko mikroskopijo ni uspelo dokazati virusov ali viroidov, na katere smo pred tem sumili.

Preglednica 1: Datumi in lokacije vzorčenja z najbližjim vodotokom (ali drugačnim opisom lokacije) ter zdravstveno stanje japonskega dresnika

Datum vzorčenja	Lokacija	Vodotok ali drugo	Zdravstveno stanje
16. julij 2012	Dolsko	Sava	vijolične pege (listi)
	Jevnica	Sava	rjavenje listov
	Zgornji Log	Sava	listi, objedeni od polža <i>Succinea putris</i>
	Litija	železniška proga	vijolične pege (listi)
	Hrastnik	Sava	vijolične pege (listi)
	Hotemaž	Sava	vijolične pege (listi)
	Boštanj	Sava	*
	Blanca	Sava	*
	Krško	Sava	izjede na listih
25. julij 2012	Kostanjevica na Krki	Krka	*
	Novo mesto	Krka	*
	Domžale	Športni park	izjede na listih
	Gornji Grad	Dreta	*
	Šmartno ob Dreti	Dreta	rja na listih
7. avgust 2012	Celje	Savinja, ob železniški progi	vijolične pege (listi)
	Stožice (LJ)	ob nogometnem štadionu	vijolične pege (listi)
	Medvode	Sora	vijolične pege (listi)
	Jeprca	nasip ob regionalni cesti	sušenje listov
	Kranj	Sava (pod mostom)	vijolične pege (listi)
	Naklo	ob njivi	*
	Bistrica	Tržiška Bistrica	*
	Gobovci	Sava	*
	Lesce	ob železniški progi	vijolične pege (listi)
21. avgust 2012	Bled	Sava Dolinka, Blejsko jezero	*
	Nomenj	navožen material	srebrne pege (listi)
	Bohinj	Bohinjsko jezero, Sava Bohinjka	*
	Maribor	Drava	vijolične pege (listi)
	Ptuj	Drava	*
	Cvetkovci	Pesnica	*
	Ormož	Lešnica	*
	Ivanjковci	ob železniški progi	*
	Zg. Kamenščak	brežina ob cesti	*
Razkrižje	brežina ob cesti	*	
Veržej	Mura	*	
Beltinci	športni park	*	
Murska Sobota	ob melioracijskem jarku	*	
Lenart	ob avtocesti, navožen material	*	

Legenda: * na japonskem dresniku ni bilo vidnih poškodb ali bolezenskih znamenj



Slika 1: Karta Slovenije z označenimi lokacijami, kjer smo preučevali zdravstveno stanje japonskega dresnika v letu 2012.

426 3 REZULTATI Z RAZPRAVO

Na večini vzorčnih mest na japonskem dresniku nismo ugotovili izrazitih poškodb ali simptomov bolezni, na več lokacijah po vsej državi pa smo na listih opazili drobne vijolične pege (ki niso bile povezane s pospešenim rumenjenjem listov) (slika 4), na katerih pa nismo našli povzročitelja bolezni in so verjetno odraz delovanja kakšnega od abiotičnih dejavnikov. Izpostaviti velja tudi najdbo dresnika z značilnimi belimi pegami na listih (slika 5) (maj, Rožna dolina v Ljubljani), v katerih pa z elektronsko mikroskopijo ni bilo dokazanih virusov ali viroidov.



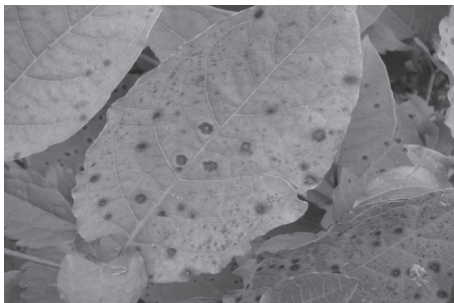
Slika 2: Polž *Succinea putris* na objedenem listu japonskega dresnika v Zgornjem Logu pri Litiji na obrežju Save (foto: S. Trdan)



Slika 3: List japonskega dresnika na obrežju Save v Krškem, objeden od neznanih grizočih organizmov (foto: S. Trdan)

Najzanimivejšo najdbo brez dvoma predstavljajo polži iz lokacije Zg. Log, katerih analiza je pokazala, da gre za vrsto *Succinea putris* (L.) (Gastropoda: Stylmatophora) (slika 2), ki je

pri nas domorodna in se predvsem rada pojavlja ob rekah, kjer se hrani z obrežnim rastlinstvom. Omenjeni polži so liste japonskega dresnika objedali le na spodnji tretjini grmov, a je bila njihova številčnost premajhna, da bi uspeli zadržati sicer bujno rast tega plevela.



Slika 4: Vijolične pege na listih japonskega dresnika na obrežju Save Dolinke pred Bledom (foto: S. Trdan)



Slika 5: List japonskega dresnika iz Rožne doline v Ljubljani, ki kaže simptome okužbe z virusi (foto: S. Trdan)

4 SKLEP

Ugotavljamo, da japonski dresnik po skoraj 100 letih pojavljanja v Sloveniji še nima učinkovitega naravnega sovražnika ali patogena, zato velja z namenom omejitve njegovega širjenja resno preučiti možnost vnosa bolšice *Aphalara itadori* Shinji, naravnega sovražnika, ki izvira iz Japonske. V tej zvezi bi bilo najprej potrebno preučiti bionomijo tega biotičnega agensa v razmerah Slovenije, zlasti njeno zmožnost preživetja zime ter njeno potencialno neciljno delovanje na sorodnike japonskega dresnika, kar sva že nedavno predlagala Laznik in Trdan (2012).

5 ZAHVALA

Prispevek je nastal s finančno pomočjo Ministrstva za kmetijstvo in okolje – Uprave RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin v okviru strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin.

6 LITERATURA

- Beerling, D. J., 1993. The impact of temperature on the northern distribution limits of the introduced species *Fallopia japonica* and *Impatiens glandulifera* in north-west Europe. *Journal of Biogeography*, 20: 45-53.
- Child, L. E., L. C. De Waal, & P. M. Wade, 1992. Control and management of *Reynoutria* species (knotweed). *Aspects of Applied Biology*, 29: 295-307.
- Holden, A.N.G., Fowler, S.V. 1992. Invasive weeds of amenity land in the UK: biological control the neglected alternative. *Aspects of Applied Biology*, 29: 325-332.
- Jogan N. 2006. Japonski dresnik (*Fallopia japonica*) rastlina leta 2006. *Proteus*, 68: 437-440.
- Kabat, T.J., Stewart, G.B., Pullin, A.S. 2006. Are Japanese knotweed (*Fallopia japonica*) control and eradication interventions effective? *Systematic Review No. 21 Centre for Evidence-Based Conservation*, Birmingham, UK.
- Kos, K., Trdan, S. 2010. Biotično zatiranje kostanjeve šiškarice (*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, Hymenoptera, Cynipidae). *Acta Agric. Slov.* 95, 1: 89-96.
- Laznik, Ž., Trdan, S. 2012. Japonski dresnik (*Fallopia japonica* [Houtt.] Ronse Decraene) in njegovo zatiranje z bolšico *Aphalara itadori* Shinji. *Acta Agric. Slov.*, 99, 1: 93-98.

- Peel, M.C., Finlayson, B.L., McMahon, T.A. 2007. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences*, 11: 1633-1644.
- Shaw, R.H., Bryner, S., Tanner, R. 2009. The life history and host range of the Japanese knotweed psyllid, *Aphalara itadori* Shinji: Potentially the first classical biological weed control agent for the European Union. *Biological Control*, 49: 105-113
- Strgar, V., 1981. Genus *Reynoutria* v adventivni flori Slovenije. *Biološki vestnik*, 29: 121-136.
- Strgar, V., 1982. Genus *Reynoutria* v adventivni flori Slovenije, II. *Biološki vestnik*, 30: 151-154.
- Strgulc-Krajšek, S., Jogan, N. 2011. Rod *Fallopia* Adans. v Sloveniji. *Hladnikia*, 28: 17-40.
- Synge, P.M. 1956. *The Royal Horticultural Society Dictionary of Gardening*. Royal Horticultural Society, Oxford.
- Urbančič-Zemljič, M., Škerlavaj, V. 1999. Postaja japonski dresnik (*Reynoutria japonica* Houtt.) v Sloveniji problem? Zbornik predavanj in referatov s 4. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Portorož, 3.-4. Marec: 85-90.
- Žežlina, I., Milevoj, L., Girolami, V. 2001. Wasp *Neodryinus typhlocybae* Ashmead - successful predator and parasitoid for reducing the population of flatid planthopper (*Metcalfa pruinosa* Say) also in Slovenia. *Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljubl., Kmet.*, 77, 2: 215-225.

RAZVOJ HITRIH IN ENOSTAVNIH DIAGNOSTIČNIH TESTOV ZA DOLOČANJE POVZROČITELJEV RASTLINSKIH BOLEZNI NA TERENU

Rok LENARČIČ¹, Polona KOGOVŠEK², Maja RAVNIKAR³

^{1,2,3}Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana

²Biotehniška fakulteta, Ljubljana

IZVLEČEK

Prepoznavanje bolezni in njihovih povzročiteljev na terenu poteka predvsem z vizualnim pregledom. Za potrditev suma pa je največkrat potrebna še dodatna laboratorijska diagnostika. Še posebno je to pomembno v primeru mikrobnih povzročiteljev bolezni kjer je potrebno za njihovo potrditev uporabiti serološke, molekularne in druge laboratorijske tehnike. Da bi skrajšali čas prvega prepoznavanja zastopanosti patogenih mikroorganizmov so se že pred leti na terenu pričeli uporabljati hitri diagnostični testi, sprva serološki v zadnjem času pa tudi molekularni. Velik korak k učinkoviti diagnostiki na terenu pa je prispeval razvoj hitre molekularne metode LAMP, ki poteka pod pogoji konstantne temperature, za branje rezultatov pa se uporablja enostaven fluorimeter. Metoda LAMP je manj občutljiva na inhibitorje v vzorcih, zato je priprava vzorca za analizo enostavnejša. Teste razvijamo v okviru dveh evropskih projektov Vitisens in Q-detect. Razvite teste bo mogoče prilagoditi za enostavno uporabo tako v laboratoriju kakor tudi pri pridelovalcih, v skladiščih, letališčih, pristanišču in na mejnih prehodih.

429

Glavne besede: diagnostika, molekularni testi, LAMP, pomnoževanje nukleinskih kislin

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF FAST AND SIMPLE DIAGNOSTIC TESTS FOR FIELD DETECTION OF PLANT PATHOGENS

Discovery of diseases and their causes in the field is performed with visual inspection. To confirm the presence, the laboratory diagnostics is often required. This is specially unavoidable in the case of plant pathogens, where use of serological, molecular or other laboratory methods is needed. To shorten the time of first plant pest recognition, fast, serological and later molecular on-site detection methods were developed. The major progress was reached with the development of fast, molecular method LAMP, which can be performed under constant temperature, with simple fluorimeter used for detection of LAMP product. The method is less prone to inhibitors; therefore the sample preparation could be faster and simpler. The tests are developed in the frame of two European projects Vitisens and Qdetect. Developed test could be adapted for easy use in the laboratory, at the production site, warehouses, airports, ports and country borders.

Key words: diagnostics, molecular tests, LAMP, DNA amplification

¹ dr. znan., Večna pot 111, SI-1000 Ljubljana

² dr. bioteh. znan., prav tam

³ prof. dr. biol. znan., prav tam

1 UVOD

V zadnjem času pospešen razvoj svetovne trgovine omogoča vse hitrejši uvoz in izvoz rastlinskega materiala, kjer je hitrost transporta ključna za ohranitev kvalitete. To pa omogoča tudi učinkovit transport živih rastlinskih škodljivcev ter patogenih mikrobov (viroidi, virusi, bakterije, glive) iz različnih delov sveta in mnogokrat tudi njihovo naselitev v novem okolju. Za preprečitev potencialne gospodarske škode, ki jo lahko povzročijo rastlinski škodljivci, je njihova hitra in zanesljiva diagnostika izjemno pomembna. Za zgodnje ukrepanje so zaželeno diagnostične metode, ki se lahko uporabljajo na mestu vstopa rastlinskega materiala v državo, npr. na letališču, v pristanišču, na mejnih prehodih. Na terenu se izvaja vizualni pregled blaga, ki pa ni zanesljiv v primeru latentnih okužb, ko okužen material ne kaže bolezenskih znamenj. V tem primeru so potrebne molekularne metode, ki ugotavljajo dedni material (DNK ali RNK) povzročitelja bolezni v vzorcu. Najbolj zanesljivi in najpogosteje uporabljeni metodi za določanje tarče v vzorcu sta PCR (verižna reakcija s polimerazo) in PCR v realnem času. Zaradi izjemne občutljivosti molekularne metode detekcije zahtevajo predhodno izolacijo dednine, kar pa je časovno zamuden postopek in zahteva uporabo večje laboratorijske opreme.

Povzročitelji bolezni so v rastlinskem materialu lahko zastopani v zelo različnih količinah in njihova količina se skozi sezono lahko spreminja, zaradi česar je potrebno rastlinski material primerno vzorčiti (čas vzorčenja, tip tkiva) in pripraviti (homogenizacija in po potrebi obogatitev dednine). Vendar pa s postopki priprave vzorca sprostim iz rastlinskih celic tudi veliko ostalih celičnih snovi, ki inhibitorno vplivajo na nadaljnje postopke molekularne analize. Tako priprava vzorca za molekularno analizo predstavlja velik izziv, predvsem če jo želimo izvesti na terenu, kjer nimamo dostopa do laboratorijske opreme.

430

Za molekularno določanje rastlinskih škodljivcev je vedno bolj priljubljena izotermalna metoda pomnoževanja LAMP (loop mediated isothermal amplification) (Parida *et al.*, 2008). Prednost te metode pred ostalimi molekularnimi metodami je predvsem v tem, da ne zahteva dolgotrajnih postopkov čiščenja in predpriprave vzorcev, saj je manj občutljiva na inhibitorje v vzorcu (škrob v gomoljih krompirja, taninske kisline v materialu vinske trte, ...) (Francois *et al.*, 2011). Poleg tega se metoda izvaja pri konstantni temperaturi (60°C - 65°C) in ne zahteva periodičnega menjavanja temperature, kot npr. PCR in posledično dragih aparatov, ki to omogočajo.

Ugotavljanje pomnoževanja dednine škodljivca v reakcijah LAMP je mogoče na več načinov. Preprostejši temeljijo na vizualni analizi nastanka oborine (Mori *et al.*, 2001), na spremembi barve zaradi dodatka posebnih barvil (Njiru *et al.*, 2008), ali s pomočjo hitrih testov (LFD-lateral flow device) (Tomlinson *et al.*, 2010). V zadnjem času pa je na trgu dostopnih več naprav, ki omogočajo tako izvedbo testa, kot tudi odčitavanje končnih rezultatov (npr. Genie II). Zato ne preseneča, da se razvija veliko število testov, ki so prilagojeni enostavni detekciji mikrobnih povzročiteljev bolezni in škodljivcev, tako karantenskih kot nekarantenskih (preglednica 1).

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Priprava vzorca

Priprava vzorca je odvisna od izhodnega materiala in od patogenega mikroorganizma, ki ga pričakujemo v vzorcu. Kadar vzorec testiramo na mikroorganizme, ki se nahajajo na vzorcu v veliki količini (na primer bakterijski izcedek), jih s plastično zanko za nacepljanje (ezo) postrgamo z vzorca. Material iz zanke za nacepljanje prenesemo v tubico z destilirano vodo in vzorec inkubiramo na 95°C vsaj 2 minuti. S tem se razbijejo celične stene in sprostijo se DNA. Insekte lahko zmaceriramo v primernem pufru.

V primeru testiranja rastlinskega materiala, kjer pričakujemo patogen mikroorganizem v notranjosti celic, vzorec homogeniziramo. Za homogenizacijo uporabimo tubice z dodanim abrazivnim sredstvom in pufrom. Tubice z vzorcem ročno stresamo 1 minuto ali pa uporabimo preprosto napravo, ki omogoča stresanje. Zanko za nacepljanje potopimo v homogeniziran vzorec in jo prenesemo v tubico z vodo. Tako pripravljene vzorce testiramo z metodo LAMP.

2.2 Izvedba LAMP testa

Z zanko za nacepljanje prenesemo 1-5 μ l homogeniziranega/toplotno tretiranega vzorca v predpripravljeno reakcijsko mešanico, ki vsebuje pufer, potrebne encime za pomnoževanje DNK/RNK, oligonukleotidne začetnike in fluorescentno barvilo. Reakcijska mešanica z dodanim vzorcem je tako pripravljena za inkubacijo na temperaturi, ki omogoča pomnoževanje tarčne DNK/RNK (60°C – 65°C). Za ta postopek lahko uporabimo enostaven termoblok ali aparature, ki zagotavljajo konstantno temperaturo in obenem odčitavajo fluorescenco. Primer take aparature je Genie II (Optigene Ltd., Horsham, UK), ki skozi potek testa odčitava količino fluorescence in rezultat sproti izrisuje na grafu. Po končani 30-minutni inkubaciji naprava omogoča še izvedbo analize talilne temperature.

2.3 Interpretacija rezultatov

Pozitivna reakcija, ki pomeni prisotnost patogenega mikroorganizma, je vidna kot nastanek barvila ali oborine v tubici. V primeru uporabe fluorescenčnih barvil in odčitavanja rezultatov z aparaturo, pa končni rezultat odčitamo iz tabele, kjer je naveden čas, ki je bil potreben za pozitivno reakcijo, to je čas pozitivnosti, in talilna temperatura končnega produkta. Obenem lahko s pregledom krivulj analiziramo in ocenimo sam potek reakcije.

431

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Zaradi enostavnosti izvedbe so testi LAMP primerni za laboratorijsko, predvsem pa za terensko diagnostiko. Razvili smo hitre in enostavne metode priprave vzorca, ki ne zahtevajo dolgotrajne izolacije dednine, temveč le homogenizacijo vzorca. Nečistoče namreč predstavljajo znatno manjši problem pri poteku reakcije LAMP kakor to velja za PCR oz. PCR v realnem času. Velika prednost metode LAMP je tudi izvedba testa pri konstantni temperaturi, brez periodičnega spreminjanja temperature, kar je značilno za PCR ali PCR v realnem času. Zahvaljujoč izotermalnosti za izvajanje testov LAMP ne potrebujemo drage laboratorijske opreme, temveč je dovolj le termoblok za vzdrževanje konstantne temperature 60°C - 65°C. Metoda LAMP zagotavlja zanesljivo analizo vzorcev v zelo kratkem času. To je predvsem pomembno pri uvozu rastlinskega materiala, katerega zdravstveni status mora biti nedvoumno potrjen v najkrajšem možnem času.

Enostavnost metode LAMP je tudi razlog za razvoj testov, ki specifično zaznavajo različne karantenske mikroorganizme in insekte. Razvitih je že več testov LAMP za določanje karantenskih in ostalih škodljivcev rastlin (preglednica 1). Praktična uporabnost metode LAMP je bila že preizkušena na terenu in na letališčih v Londonu in v Zürichu.

V okviru evropskega projekta Q-detect je bila izdelana prenosna naprava Genie II, ki omogoča izvedbo testa LAMP na terenu ali v laboratoriju. Naprava omogoča izvedbo testa pri potrebni reakcijski temperaturi, dodatno pa ima vgrajen optični sistem, ki skozi potek testa odčitava količino pomnoženega tarčnega gena. Spremljanje količine pomnoževanja omogoča v reakcijski mešanici prisotno fluorescentno barvilo, ki se veže le na pomnoženo dvovijačno DNK, ta pa nastane le v pozitivnih reakcijah. Barvilo oddaja fluorescenco le,

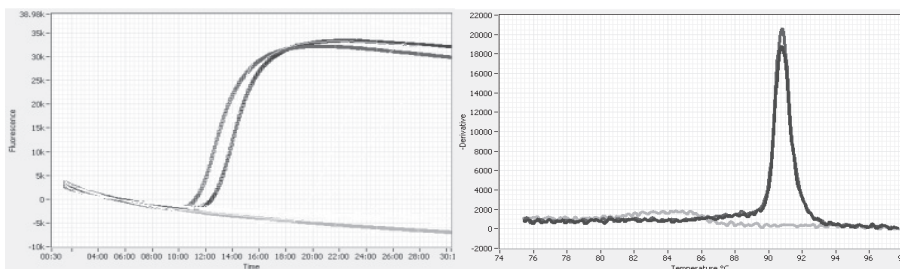
ko je vezano na dvojnovijačno DNK. V negativnih reakcijah, kjer tarčnega patogena ni, pomnoževanje DNK ne poteka in posledično naraščanja intenzitete fluorescence ne zaznamo (slika 3).

Preglednica 1: Primeri dostopnih testov LAMP za določanje rastlinskih škodljivcev

Škodljivi organizem	Avtor in publikacija
Virusi in viroidi	
<i>Potato spindle tuber viroid</i>	Lenarčič in sod., 2013, Plant Pathol
<i>Cassava brown streak virus</i>	Tomlinson in sod., 2012, J Virol Meth,
<i>Potato virus Y</i>	Nie, 2005, Plant Disease
Bakterije in fitoplazme	
<i>Erwinia amylovora</i>	Buhlman in sod., 2013, J Microbiol Meth
<i>Xanthomonas arboricola</i>	Buhlman in sod., 2012, Plant Pathol
Fitoplazme	Hodgetts in sod., 2011, Bull Insect
Glive	
<i>Botrytis cinerea</i>	Tomlinson in sod., 2010, Lett Appl Microbiol
<i>Phytophthora kernoviae</i>	Tomlinson in sod., 2010, Phytopathol
<i>Phytophthora ramorum</i>	Tomlinson in sod., 2010, Phytopathol
Škodljivec	
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	Kikuchi in sod., 2009, Nematology

V zadnji stopnji testiranja naprava omogoča tudi potrditev dobljenega rezultata preko analize talilne krivulje. To dobimo tako, da se vzorec segreje na 95°C, pri tej temperaturi pomnožena dvojnovijačna DNK razpade, nato pa naprava postopoma ohlaja testiran vzorec. Med postopnim ohlajanjem se enovijačna DNK ponovno sestavi v dvojnovijačno, pri čemer je ponovno zaznana fluorescenca. Temperatura, pri kateri se to zgodi (talilna temperatura), se zapiše kot del rezultata in jo uporabimo za dodatno potrditev analize (slika 3).

432



Slika 3: Prikaz rezultatov testa LAMP. Pozitiven vzorec (modra krivulja) kaže naraščanje fluorescence med testom, kar je primerljivo s pozitivno kontrolo (rdeča krivulja) (levo). Fluorescenca narašča zaradi vse več pomnožene DNK v vzorcu. Nasprotno pa v negativnem vzorcu oziroma negativni kontroli (zelena krivulja) naraščanja fluorescence ni zaznati, saj ni tarčne DNK, ki bi se pomnoževala. Potrditev pozitivnih rezultatov s pomočjo talilne krivulje (desno).

Eksperimentalni podatki kažejo, da je za vsak tarčni gen značilna točno določena in ob vsakem testu enaka temperatura taljenja DNK, kar omogoča potrditev dobljenih rezultatov. Kadar se talilna krivulja ujema s pričakovano, je rezultat nedvoumno pozitiven. Če pa se talilna krivulja ne ujema s pričakovano, potem je rezultat lažno pozitiven in je potrebno opraviti dodatne analize.

3.1 Specifičnost testov LAMP

Specifičnost metode LAMP je ob dobro pripravljenem in validiranem testu enaka drugim molekularnim metodam. Dobro specifičnost zagotavlja uporaba več parov oligonukleotidnih začetnikov.

3.2 Občutljivost testov LAMP

V večini primerov so testi LAMP 10x bolj občutljivi od navadne verižne reakcije s polimerazo (PCR) in 10x manj občutljivi od primerljivih PCR testov v realnem času.

4 SKLEPI

- Metoda LAMP ustreza za detekcijo in identifikacijo različnih rastlinskih škodljivcev in patogenih mikrobov.
- Metoda LAMP je še posebno ustrezna za analizo simptomatičnega rastlinskega materiala ali škodljivcev.
- Zapleteni postopki izolacije dednine pred izvedbo analize z metodo LAMP niso potrebni, saj metoda ni občutljiva na inhibitorje reakcije pomnoževanja dednine
- Zaradi hitrosti in enostavnosti izvedbe analize in odčitavanja rezultatov je metoda LAMP uporabna na terenu.
- Na voljo so že prenosne naprave, ki so zaradi majhnosti in možnosti baterijskega napajanja primerne tako za terensko kot tudi za laboratorijsko testiranje.

5 ZAHVALA

Razvoj LAMP metode je bil financiran preko Sedmega okvirnega programa Evropske unije, projektov Q-Detect in VITISENS.

6 LITERATURA

- Francois, P., Tangomo, M., Hibbs, J., Bonetti, E.J., Boehme, C.C., Notomi, T., Perkins, M.D., & Schrenzel, J. 2011. Robustness of a loop-mediated isothermal amplification reaction for diagnostic applications. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 62, (1) 41-48 available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00785.x>
- Mori, Y., Nagamine, K., Tomita, N., & Notomi, T. 2001. Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 289, (1) 150-154
- Njiru, Z.K., Mikosza, A.S.J., Armstrong, T., Enyaru, J.C., Ndung'u, J.M., & Thompson, A.R.C. 2008. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Method for Rapid Detection of *Trypanosoma brucei rhodesiense*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2, (2)
- Parida, M., Sannarangaiyah, S., Dash, P.K., Rao, P.V.L., & Morita, K. 2008. Loop mediated isothermal amplification (LAMP): a new generation of innovative gene amplification technique; perspectives in clinical diagnosis of infectious diseases. *Reviews in Medical Virology*, 18, (6) 407-421
- Tomlinson, J.A., Dickinson, M.J., & Boonham, N. 2010. Rapid Detection of *Phytophthora ramorum* and *P. kernoviae* by Two-Minute DNA Extraction Followed by Isothermal Amplification and Amplicon Detection by Generic Lateral Flow Device. *Phytopathology*, 100, (2) 143-149

VPLIV NAČINA GOJENJA NA KEMIČNO SESTAVO FIŽOLA (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Top Crop)

Robert VEBERIČ¹, Ana SLATNAR², Maja MIKULIČ-PETKOVŠEK³, Jerneja JAKOPIČ⁴,
Franci ŠTAMPAR⁵, Franci BAVEC⁶, Martina BAVEC⁷

^{1,2,3,4,5} Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za
sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo, Ljubljana

^{6,7} Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Pivola

IZVLEČEK

Preverili smo kako različni načini pridelave (integrirana, ekološka, biodinamična, konvencionalna ter kontrola) vplivajo na kemično sestavo strokov fižola (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. 'Top Crop'. S pomočjo HPLC sistema smo ugotavljali vpliv na vsebnost organskih kislin, sladkorjev in fenolnih snovi ter spremljali razlike v njihovi vsebnosti. Kemična sestava fižolov je bila podobna ne glede na način pridelave, je pa imel način pridelave vpliv na vsebnost različnih snovi. Fižol iz konvencionalne pridelave je vseboval najnižje vsebnosti glukoze, fruktoze, askorbinske kisline in številnih fenolnih snovi iz različnih skupin. Stroki fižola pridelanega na integriran način so imeli nizke vsebnosti nekaterih sladkorjev, kot sta na primer glukoza in saharoza, hkrati pa najvišje vsebnosti nekaterih flavanolov in derivatov fenolnih kislin. Oba načina ekološke pridelave in kontrolno obravnavanje so se odrazili v višji vsebnosti sladkorjev v strokih ter v manjši vsebnosti nekaterih fenolnih snovi. S poskusom smo pokazali, da lahko z načinom pridelave vplivamo na snovi v strokih, ki določajo okus ter lahko vplivamo na vsebnost snovi, ki so pomembne za zdravje ljudi.

Ključne besede: konvencionalna, integrirana, ekološka, biodinamična pridelava, sladkorji, organske kisline, fenoli

ABSTRACT

THE INFLUENCE OF DIFFERENT PRODUCTION SYSTEMS ON CHEMICAL COMPOSITION OF DWARF FRENCH BEAN (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Top Crop)

The aim of the trial was to test different production systems (conventional, integrated, organic and biodynamic production system and the control) and their impact on composition and content of various chemical compounds of dwarf French beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Top Crop. Determination of sugars, organic acids and phenolics was performed with HPLC system. Chemical composition of the beans was unaffected by the production systems, however, the content levels of individual compounds were changed. Beans from the conventional production system contained lowest levels of fructose, glucose, ascorbic acid and many phenolics from various groups. The pods from integrated production contained lowest levels of glucose and sucrose and highest levels of flavanols and fenolic acid

¹ prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ doc. dr., prav tam

⁴ asist. dr., prav tam

⁵ prof. dr., prav tam

⁶ prof. dr., Pivola 10, SI-2311 Hoče

⁷ prof. dr., prav tam

derivatives. The control treatment, as well as organic and biodynamic productions positively affected the levels of sugar content and caused a lower content of some phenolic compounds. With the trial we were able to show that different production systems can affect the level of compounds that influence the taste of French beans as well as the content of compounds important for human health.

Keywords: conventional, integrated, organic, biodynamic, production system, sugars, organic acids, phenolics, beans

1 UVOD

Pridelava zelenjave je vedno bolj pod pritiskom zahtev potrošnikov po zdravi in varni hrani ter predpisov in aktov o varstvu okolja. Temu se mora prilagoditi tudi tehnologija pridelave. Konvencionalna pridelava teži predvsem k povečanju pridelkov z uporabo mineralnih gnojil po načelih dobre kmetijske prakse in zahtev rastline. Uporaba fitofarmaceutskih sredstev (FFS) je preventivna in prav tako v skladu z načeli dobre kmetijske prakse. Ker je tak način pridelave zaradi večjih količin FFS in mineralnih gnojil okoljsko problematičen, se je po letu 1990 v Sloveniji začel uveljavljati sistem integrirane pridelave. Za ta način pridelave je značilno gnojenje na podlagi talnih analiz in predvidenega sprejema rastline ter uporaba FFS glede na prognoze, opazovanje in pravila integrirane pridelave (Pravilnik o integrirani pridelavi zelenjave). Način pridelave, ki je še bolj usmerjen k varovanju narave je ekološka pridelava. Pri tem se velika pozornost namenja kolobarjenju in obdelavi tal. Sintetični FFS, fitoregulatorji in mineralna gnojila v ekološki pridelavi niso dovoljeni (Pravilnik o ekološki pridelavi in predelavi kmetijskih pridelkov oziroma živil). Biodinamično kmetijstvo je eden izmed načinov ekološke pridelave, kjer se uporablja devet različnih pripravkov z namenom vzpodbujanja biološke pestrosti in trajnostnega načina kmetovanja (Pridelovalni standardi za uporabo blagovne znamke Demeter; Turinek *et al.*, 2009).

V zadnjih letih je bilo kar nekaj študij, ki so primerjale konvencionalni in ekološki način pridelave sadja in zelenjave (Kapoulas *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2008), ali pa integriran in ekološki način (Mikulič-Petkovšek *et al.*, 2010; Jonsson *et al.*, 2010) ter so prišli do različnih rezultatov odvisno od preučevane rastline in ukrepov.

V naši raziskavi smo primerjali kemično sestavo strokov fižola iz različnih načinov pridelave (konvencionalna, integrirana, ekološka, biodinamična in kontrola). V ta namen smo fižol posadili na parcelice, ki so bile blizu skupaj in so imele enake vremenske in talne razmere ter različen način pridelave.

2 MATERIAL IN METODE

V poskus je bila vključena sorta fižola (*Phaseolus vulgaris* L.) 'Top Crop'. Stroke smo nabirali v letu 2011 na polju Fakultete za kmetijstvo in biosistemske vede v kraju Pivola pri Hočah. V poskusu smo imeli 4 različne načine pridelave (konvencionalna, integrirana, ekološka, biodinamična), ki so se med seboj razlikovali najbolj v uporabi FFS in strategijah gnojenja. Načine smo primerjali s kontrolo (negnojeno in netretirano). Za kemične analize smo stroke obrali 26. julija 2011 in jih do analiz shranili na -20 °C.

Ekstrakcijo sladkorjev in organskih kislin smo izvedli po metodi Mikulič-Petkovšek *et al.* (2007) ter fenolov po metodi Mikulič-Petkovšek *et al.* (2010). Vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov smo analizirali na HPLC sistemu. Podatke smo statistično obdelali s programom Statgraphic Plus 4.0. Uporabili smo enosmerno analizo variance ($p < 0,05$).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Sladkorji

Fruktoza je bil najpomembnejši sladkor v strokih fižola (od 3,88 mg/g suhe snovi - SS pri konvencionalni pridelavi do 4,93 mg/g SS pri kontroli) (preglednica 1), saj je predstavljala kar 52 do 54% vseh analiziranih sladkorjev, kar je v skladu z raziskavami Sanchez-Mata *et al.* (2002). Drugi najpomembnejši sladkor je bila glukoza (42%), medtem, ko je bila saharoza zastopana le manjši meri (<6 % skupnih sladkorjev). Generalno so najvišje vsebnosti skupnih in posameznih sladkorjev bile v obravnavanju kontrola in najmanjše v integriranem načinu pridelave. Med ekološkim, in biodinamičnim načinom ni bilo značilnih razlik. Vsebnosti so podobne kot pri kontroli. Prav tako ni značilnih razlik med konvencionalnim in integriranim načinom pridelave. Rembialkowska (2007) poroča, da različne študije kažejo na večjo vsebnost skupnih sladkorjev in zlasti saharoze v ekološko pridelani zelenjavi kot so korenček, sladkorna pesa, rdeča pesa in špinača.

Preglednica 1: Vsebnost posameznih sladkorjev (mg/g suhe snovi) v strokih fižola iz različnih načinov pridelave.
Table 1: Content of Individual Sugars (mg/g DW) in Dwarf French Bean in Different Production Systems

Način pridelave	Fruktoza	Glukoza	Saharaza	Vsota sladkorjev
Biodinamični	4,53±0,10 bc	3,57±0,08 b	0,50±0,04 ab	8,61±0,21 bc
Ekološki	4,58±0,11 bc	3,66±0,11 b	0,53±0,02 b	8,77±0,22 c
Integrirani	4,26±0,20 ab	3,16±0,03 a	0,39±0,05 a	7,80±0,18 ab
Kontrola	4,93±0,23 c	3,86±0,20 b	0,58±0,06 b	9,37±0,48 c
Konvencionalni	3,88±0,16 a	3,16±0,13 a	0,45±0,02 ab	7,49±0,29 a

Prikazane so povprečne vrednosti ± SN (n=5). Različne črke v stolpcu prikazujejo statistično značilne razlike med načini pridelave (Duncanov test; $p < 0.05$).

3.2 Organske kisline

Najbolj zastopana organska kislina v fižolu je bila jabolčna kislina (predstavlja okrog 90 %), sledita ji citronska in askorbinska kislina (preglednica 2). Čeprav ni bilo statistično značilnih razlik v vsebnosti organskih kislin, so najnižjo vrednost imeli stroki iz konvencionalne pridelave. V različnih študijah o vplivu načina pridelave na zelenjavo so prišli do različnih zaključkov brez enotnih ugotovitev (Woese *et al.*, 1997).

Preglednica 2: Vsebnost posameznih organskih kislin (mg/kg suhe snovi) v strokih fižola iz različnih načinov pridelave.

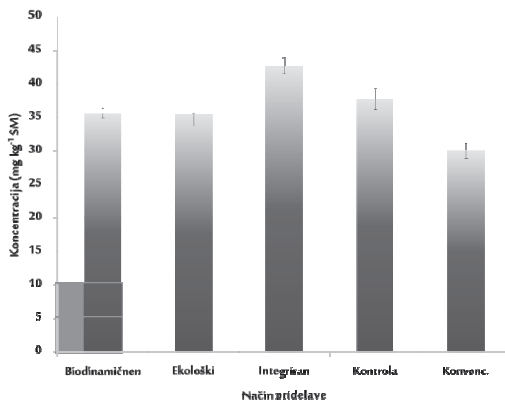
Table 2: Content of Individual Organic Acids (mg/kg DW) in Dwarf French Bean in Different Production Systems.

Način pridelave	Jabolčna k.	Citronska k.	Askorbinska k.
Biodinamičen	642±26	50,5±5,0	18,2±0,6 b
Ekološki	670±48	60,2±7,2	19,9±0,8 b
Integriran	656±31	54,2±4,3	17,7±1,6 b
Kontrola	687±21	63,7±7,8	17,7±1,8 b
Konvencionalni	575±38	43,3±4,8	8,9±1,0 a

Prikazane so povprečne vrednosti ± SN (n=5). Različne črke v stolpcu prikazujejo statistično značilne razlike med načini pridelave (Duncanov test; $p < 0.05$).

3.3 Fenolne snovi

Fenolne snovi so pomembne za kakovost zelenjave, saj doprinesejo k okusu, aromi, videzu in barvi. Prav tako pa bi naj bile koristne za zdravje ljudi (Lattanzio, 2003). V strokih fižola smo določili šestnajst različnih fenolnih snovi. Načini pridelave so imeli vpliv na količino snovi, ne pa tudi na kemično sestavo, ki je ostala enaka. Flavonoidi (flavanoli in flavonoli) sta bili prevladujoči skupini v strokih fižola. Njihov vsota je bila med 25,98 (konvencionalna pridelava) in 37,94 mg/kg SS (integrirana pridelava), kar predstavlja več kot 91% vseh analiziranih fenolov (slika 1). V strokih iz integrirane pridelave so bile izmerjene višje vsebnosti nekaterih flavanolov in derivatov fenolnih kislin, vendar v seštevku vsebnosti fenolnih snovi med pridelovalnimi sistemi ni bilo značilnih razlik. Med ekološko in biodinamično pridelavo ni bilo značilnih razlik v vsebnosti tako posameznih kot tudi skupnih fenolov. V predhodni študiji na rdeči pesi (Bavec et al., 2010), so se skupni fenoli prav tako razlikovali med različnimi načini pridelave. Avtorji prav tako ne poročajo o razlikah med biodinamično, ekološko in integrirano pridelavo.



Slika 1: Vsota analiziranih fenolnih snovi (mg/kg DW) v strokih fižola iz različnih pridelovalnih sistemov. Prikazane so povprečne vrednosti in standardne napake (n=5).

Figure 1: Content of total analysed phenolic compounds (mg/kg DW) in dwarf French bean from five production systems. Average values and standard error bars are presented (n = 5).

4 SKLEPI

Različni načini pridelave so vplivali na vsebnost sladkorjev, organskih kislin in fenolnih snovi. Oba načina ekološke pridelave se le malo razlikujeta med seboj in od kontrolnega obravnavanja.

5 ZAHVALA

Raziskava je financirana iz ARRS projekta št. J4-4187.

6 LITERATURA

Bavec, M., Turinek, M., Grobelnik-Mlakar, S., Slatnar, A., Bavec, F., 2010. Influence of Industrial and Alternative Farming Systems on Contents of Sugars, Organic Acids, Total Phenolic Content, and the Antioxidant Activity of Red Beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* Rote Kugel). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58: 11825-11831.

- Jonsson, A., Nybom, H., Rumpunen, K., 2010. Fungal disease and fruit quality in an apple orchard converted from integrated production to organic production. *Journal of Sustainable Agriculture*, 34: 15-37.
- Kapoulas, N., Ilic, Z. S., Durovka, M., Trajkovic, R., Milenkovic, L., 2011. Effect of organic and conventional production practices on nutritional value and antioxidant activity of tomatoes. *African Journal of Biotechnology*, 10: 15938-15945.
- Lattanzio, V. 2003. Bioactive polyphenols: Their role in quality and storability of fruit and vegetables. *Journal of Applied Botany-Angewandte Botanik*, 77: 128-146.
- Mikulič-Petkovšek, M., Štampar, F., Veberič, R., 2007. Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*, 114: 37-44.
- Mikulič-Petkovšek, M., Slatnar, A., Štampar, F., Veberič, R., 2010. The influence of organic/integrated production on the content of phenolic compounds in apple leaves and fruits in four different varieties over a 2-year period. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 2366-2378.
- Pravilnik o integrirani pridelavi zelenjave, http://zakonodaja.gov.si/rpsi/r09/predpis_PRAV4289.html
- Pravilnik o ekološki pridelavi in predelavi kmetijskih pridelkov oziroma živil http://zakonodaja.gov.si/rpsi/r03/predpis_PRAV3783.html
- Pridelovalni standardi za uporabo blagovne znamke Demeter. Production standards for the use of Demeter, biodynamic and related trademarks. <http://www.demeter.net/sites/default/files/DI%20production%20stds%20Demeter%20Biodynamic%2012-e.pdf>
- Rembialkowska, E., 2007. Quality of plant products from organic agriculture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 2757-2762.
- Sanchez-Mata, M. D., Camara-Hurtado, M., Diez-Marques, C. 2002. Identification and quantification of soluble sugars in green beans by HPLC. *European Food Research and Technology*, 214: 254-258.
- Turinek, M., Grobelnik-Mlakar, S., Bavec, M., Bavec, F., 2009. Biodynamic agriculture research progress and priorities. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 24: 146-154.
- Wang, S. Y., Chen, C. T., Sciarappa, W., Wang, C. Y., Camp, M. J., 2008. Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 5788-5794.
- Woese, K., Lange, D., Boess, C., Bogl, K. W., 1997. A comparison of organically and conventionally grown foods - Results of a review of the relevant literature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74: 281-293.

VPLIV VOZNE HITROSTI PRI ŠKROPLJENJU S FUNGICIDI NA PREKRITOST KLASOV OZIMNE PŠENICE

Filip VUČAJNK¹, Alojz SREŠ², Darja KOČJAN AČKO³, Gregor LESKOŠEK⁴,
Matej VIDRIH⁵, Stanislav TRDAN⁶

^{1,3,5,6} Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko
tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

² Bayer d.o.o., Bayer CropScience, Ljubljana

⁴ Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec

IZVLEČEK

Na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani smo v letu 2011 izvedli poljski poskus, v katerem smo ugotavljali vpliv vozne hitrosti (5 km/h, 8,5 km/h in 12 km/h) ob škropljenju na nanos fungicida Prosaro (a. s. protiokonazol, tebukonazol) na sprednjo in zadnjo stran klasa ozimne pšenice. Škropljenje smo izvedli z injektorskimi šobami z dvojnimi asimetričnim curkom. Prvi curek je bil usmerjen pod kotom 10° naprej, drugi pa pod kotom 50° nazaj glede na smer vožnje. Odstotek prekritosti s škropilno brozgo je bil pri vseh treh voznih hitrostih na sprednji strani klasa nižji kot na zadnji strani klasa, tako na samih rastlinah kot tudi na kolih. Na sprednji strani klasa je bil odstotek prekritosti klasov pri voznih hitrostih 5 in 12 km/h nekoliko višji kot pri vozni hitrosti 8,5 km/h. Na zadnji strani klasa se je odstotek prekritosti s škropilno brozgo zmanjševal pri večji vozni hitrosti, predvsem 12 km/h. Število odtisov kapljic na cm² je bilo pri vseh treh voznih hitrostih na zadnji strani klasa višje kot na sprednji strani klasa. Pri večjih voznih hitrostih je bilo število odtisov kapljic na cm² na sprednji strani klasa nekoliko večje. Na zadnji strani klasa je bilo pri hitrosti 12 km/h število odtisov kapljic na cm² manjše kot pri ostalih dveh hitrostih (5 in 8,5 km/h).

Ključne besede: fitofarmacevtska sredstva, nanos, ozimna pšenica, šobe

ABSTRACT

THE EFFECT OF WORKING SPEED ON THE FUNGICIDE SPRAY DEPOSITION OF WINTER WHEAT EARS

In 2011, a field trial was conducted in the experimental field of the Biotechnical Faculty (University of Ljubljana, Slovenia) to determine the effect of working speed (i.e. 5km/h, 8.5km/h and 12km/h) on the fungicide Prosaro (a. s. protiokonazol, tebukonazol) spray deposition on the front and rear parts of winter wheat ears. Asymmetric double flat fan air-injector nozzles were used in the trial. The first spray jet was set at a 10° forward angle and the second one at a 50° backward angle according to the direction of spraying. At all three workings speeds, the spray mixture coverage value was smaller on the front part of the ear and bigger on the rear parts of both plants and poles. On the front part of the ear, the coverage value at the working speeds of 5 and 12km/h was slightly higher than at the working speed of 8.5km/h. On the rear part of the ear, however, the spray mixture coverage

¹ asist., dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., Bravničarjeva 13, SI-1000 Ljubljana

³ doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

⁴ univ. dipl. inž. agr., Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec

⁵ doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

⁶ prof. dr., prav tam

value decreased with an increased working speed (particularly at the speed of 12km/h). At all three working speeds, the droplet impression number per cm² was higher on the rear part of the ear. At higher working speeds, there was a slight increase in the droplet impression number per cm² on the front part of the ear. At the spraying speed of 12km/h, the droplet impression number per cm² on the rear part of the ear was smaller than with the other two spraying speeds (5 and 8.5km/h).

Key words: plant protection, deposition, winter wheat, nozzle

1 UVOD

Fuzarioze klasa, ki jih povzroča več vrst gliv iz rodu *Fusarium*, so ena najpomembnejših boleznin na pšenici (Wiese, 1987; Blandino *et al.*, 2006; Mesterházy *et al.*, 2003). Pomemben dejavnik pri zatiranju fuzarioz klasa je tudi dobra prekritost sprednje in zadnje strani klasa s fungicidno oblogo. Mnoge tuje raziskave kažejo, da je prekritost klasov s fungicidno brozgo slabša ter neenakomerna na sprednji in zadnji strani klasa (McMullen *et al.*, 1999). Predvsem šobe z enojnim curkom, usmerjenim navpično navzdol, slabše prekrijejo zadnjo stran klasa (Halley, 1999). Mnogi avtorji so ugotovili boljšo prekritost sprednje in zadnje strani klasov s fungicidno oblogo pri šobah z enim curkom usmerjenim pod določenim kotom nazaj, pri šobah z dvojnimi simetričnim curkom in pri šobah z dvojnimi asimetričnim curkom (Bryant *et al.*, 1984; Miller *et al.*, 2002; Parkin *et al.*, 2006; Vajs *et al.*, 2008; Knewitz in Koch, 2010.). V zadnjih letih se na trgu pojavljajo injektorske šobe z dvojnimi asimetričnim curkom, s katerimi lahko škropimo pri hitrostih, višjih od 10 km/h, kot navajajo izdelovalci teh šob. Zaradi tega smo postavili poskus s tremi različnimi hitrostmi škropljenja pri uporabi teh šob, v katerem smo ugotavljali kakovost nanosa fungicida na sprednji in zadnji strani klasov pri ozimni pšenici.

440

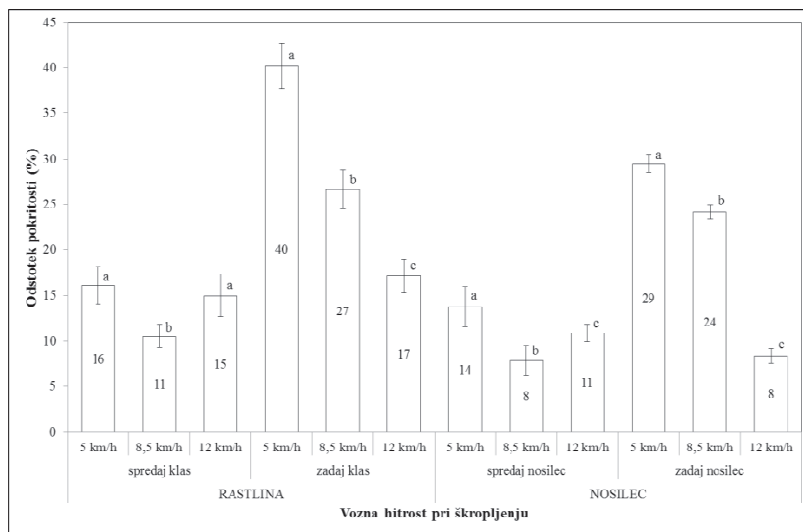
2 MATERIAL IN METODE

V letu 2011 smo na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete izvedli poskus, v katerem smo uporabili tri vozne hitrosti (5, 8,5 in 12 km/h) pri škropljenju klasov ozimne pšenice. Poskus je bil zasnovan v obliki slučajnih blokov s tremi ponovitvami. Škropljenje smo izvedli z injektorskimi šobami z dvojnimi asimetričnim curkom TurboDrop HiSpeed 110-03. Prvi curek je usmerjen naprej za kot 10° od vertikale, drugi curek pa nazaj za kot 50° od vertikale. Tlak škropljenja je znašal 5,0 bar, pretok šobe pa 1,55 l/min. Škropljenje smo izvedli s fungicidom Provaro (a. s. protiokonazol, tebukonazol) za preprečevanje okužb s fuzariozami klasa v začetku cvetenja (BBCH 61). Uporabili smo nošeno traktorsko škropilnico z volumnom rezervoarja 600 l in delovno širino 12 m. Pred škropljenjem smo na posamezni poskusni parceli naključno izbrali 5 rastlin in na sprednjo ter zadnjo stran klasov namestili na vodo občutljive lističe (WSP). Poleg tega smo na vsaki poskusni parceli slučajno razporedili 5 nosilcev in jih postavili točno pod kot 90°. Tudi nanje smo na vrhu na sprednji in zadnji strani namestili na vodo občutljive lističe. Tako smo dobili primerjavo med klasi, ki niso postavljeni pod kotom 90° in nosilci, ki so bili natanko pod kotom 90°. Z napravo za analizo slik (Optomax V. Image Analyser) smo na vsakem merilnem lističu analizirali odtise kapljic. Poseben program APA 2001 V5.1 je na podlagi analize slik izračunal odstotek prekritosti in število odtisov kapljic na cm². Statistično analizo smo naredili po postopku, ki velja za slučajne bloke s ponovitvami znotraj poskusnih enot. Izračunali smo analizo variance in Duncanov test mnogoterih primerjav. Rezultati so predstavljeni v obliki vrtilnih grafikonov kot povprečja s standardnimi napakami.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V poskusu smo ugotovili, da je bil odstotek prekritosti tako na sprednji strani klasov kot tudi na sprednji strani nosilcev nižji kot na zadnji strani (slika 1). To ni bilo pričakovano, saj mnogi avtorji navajajo, da je pri škropljenju klasa slabša prekritost predvsem zadnje strani klasa. Rezultati nakazujejo, da ima injektorska šoba z dvojnimi asimetričnim curkom, primeren kot curka, ki je usmerjen nazaj za 50° , kar omogoča dobro prekritost zadnje strani klasa. Predvidevamo pa, da je kot sprednjega curka (10°) nekoliko premajhen in bi moral biti večji. Zaradi tega sklepamo, da je večina kapljic zadelala nižje dele rastlin pod klasom na sprednji strani. Wilmer (2011) navaja, da sta pri uporabi injektorske šobe z dvojnimi asimetričnim curkom pri hitrosti škropljenja 9 km/h in hitrosti kapljic 4 m/s oba škropilna curka, tako sprednji kot zadnji pod enakim kotom - simetrična, kar pomeni boljše prekritost tako sprednje kot zadnje strani klasa. Naši rezultati tega ne potrjujejo. Podobnih raziskav kot je naša je tujini malo, večinoma gre za primerjavo različnih izvedb injektorskih in standardnih šob, tako da naših rezultatov ne moremo direktno primerjati. Zanimivo je, da je bil odstotek prekritosti na sprednji strani klasa kot tudi na sprednji strani nosilca pri vozni hitrosti 8,5 km/h nižji kot pri ostalih dveh hitrostih. To ni bilo v skladu z našo postavljeno hipotezo, saj smo pričakovali da bo pri povišani vozni hitrosti odstotek prekritosti slabši. Po drugi strani se je odstotek prekritosti na zadnji strani klasa zmanjševal s povečanjem vozne hitrosti, kar je potrdilo postavljeno hipotezo. Pri hitrostih 8,5 in 12 km/h je bil občuten padec odstotka prekritosti (27 % in 17 %) v primerjavi z vožno hitrostjo 5 km/h (40 %). Podobne rezultate kot na zadnji strani klasov smo dobili tudi na zadnji strani nosilcev. Nosilce smo v poskusu uporabili zato, ker so bili postavljeni natančno pod kotom 90° in na enaki oddaljenosti od tal (90 cm), medtem ko so klasi postavljeni pod različnimi koti. Tako smo zagotovili konstantne pogoje.

441

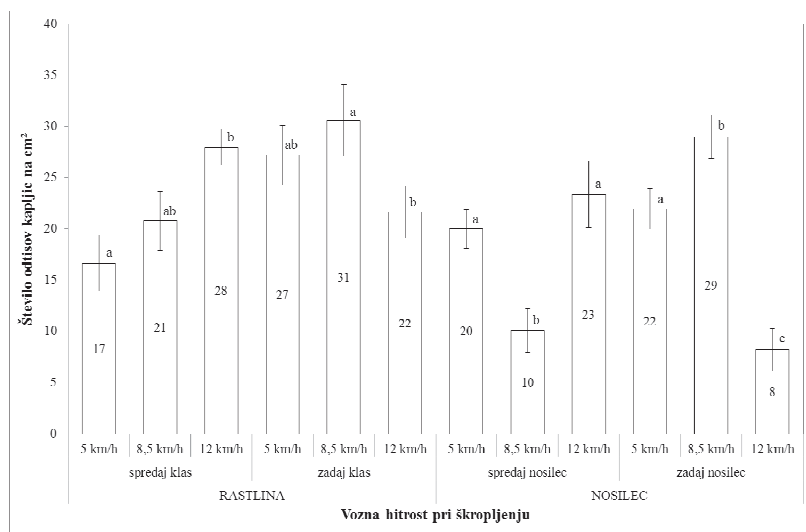


Slika 1: Odstotek prekritosti na sprednji in zadnji strani klasov ter na sprednji in zadnji strani nosilcev pri treh različnih hitrostih škropljenja (%). Ročaji predstavljajo standardne napake od povprečja. *Različne črke pomenijo statistično značilno razliko v odstotku prekritosti pri različnih hitrostih škropljenja ($p < 0,05$).

Izkazalo se je, da je prekritost na sprednji in zadnji strani nosilcev nekoliko nižja kot na samih rastlinah. Kljub temu smo dobili podobne rezultate. Sami klasi pšenice niso enake debeline po celi površini klasa ampak so na vrhu malo zoženi, medtem ko je bila debelina nosilcev 10 mm. Očitno je to dejstvo in sam kot, pod katerim je postavljen klas, vplival na boljšo prekritost klasov v primerjavi z nosilci.

Analizirali smo tudi število odtisov kapljic na cm^2 na sprednji in zadnji strani klasov kot tudi na sprednji in zadnji strani nosilcev (slika 2). Na sprednji strani klasa je bilo pri hitrosti škropljenja 5 km/h manj odtisov kapljic na cm^2 kot pri hitrosti škropljenja 12 km/h. Če primerjamo število odtisov kapljic na cm^2 in odstotek prekritosti na sprednji strani klasa pri hitrostih 5 in 12 km/h, lahko rečemo, da so bile pri hitrosti škropljenja 5 km/h kapljice, ki so zadele sprednjo stran klasa nekoliko večje kot pri hitrosti škropljenja 12 km/h. Na sprednji strani nosilca je bilo število odtisov kapljic na cm^2 pri hitrostih škropljenja 5 in 12 km/h večje kot pri hitrosti škropljenja 8,5 km/h, kar se je odrazilo v najnižjem odstotku prekritosti pri hitrosti škropljenja 8,5 km/h. Na zadnji strani klasa je pri hitrostih škropljenja 8,5 km/h večje število odtisov kapljic kot pri hitrosti škropljenja 12 km/h (slika 2). Pri tej hitrosti je zadnjo stran klasa zadele manj kapljic, kar je prispevalo tudi k najnižjem odstotku prekritosti med vsemi tremi hitrostmi škropljenja. Tudi na zadnji strani nosilcev je bilo pri hitrosti škropljenja 12 km/h precej manj odtisov kapljic na cm^2 kot pri ostalih dveh hitrostih škropljenja. To se je odrazilo tudi v najnižjem odstotku prekritosti zadnje strani nosilcev pri hitrosti škropljenja 12 km/h. Rezultati tako na klasu kot na nosilcu na zadnji strani kažejo, da je predvsem pri hitrosti škropljenja 12 km/h manjše število odtisov kapljic na cm^2 kot pri ostalih dveh hitrostih. Očitno je bila ta hitrost prevelika, da bi zadosti število kapljic zadele zadnjo stran klasa in zagotovilo dober fungicidni nanos.

442



Slika 2: Število odtisov kapljic na cm^2 na sprednji in zadnji strani klasov ter na sprednji in zadnji strani nosilcev pri treh različnih hitrostih škropljenja. Ročaji predstavljajo standardne napake od povprečja. *Različne črke pomenijo statistično značilno razliko v številu odtisov kapljic na cm^2 pri različnih hitrostih škropljenja ($p < 0,05$).

4 SKLEPI

Na zadnji strani klasa in na zadnji strani nosilca se je odstotek prekritosti s škropilno brozgo zmanjševal z večanjem hitrosti pri škropljenju. Odstotek prekritosti s škropilno brozgo je bil pri vseh treh hitrostih škropljenja na sprednji strani nižji kot na zadnji strani, tako na rastlinah kot tudi na nosilcih. Na sprednji strani klasa in na sprednji strani nosilca je bil odstotek prekritosti pri voznih hitrostih 5 in 12 km/h višji kot pri vozni hitrosti 8,5 km/h. Pri hitrostih škropljenja 5 in 8,5 km/h je bilo na zadnji strani klasa več odtisov kapljic na cm² kot na sprednji strani klasa, pri hitrosti pa 12 km/h pa manj. Na nosilcih sta bila odstotek prekritosti in število odtisov kapljic na cm², tako na sprednji kot tudi na zadnji strani, večinoma nekoliko nižja kot na rastlinah. Hitrost pri škropljenju 12 km/h je previsoka predvsem zaradi slabše prekritosti zadnje strani klasov. Na podlagi rezultatov predvidevamo, da bi bilo potrebno kot med curkom usmerjenim naprej in vertikalno povečati, da bi dobili boljšo prekritost sprednje strani klasov s fungicidno brozgo.

5 LITERATURA

- Blandino, M., Minelli, L., Reyneri, A. 2006. Strategies for the chemical control of *Fusarium* head blight: Effect on yield, alveographic parameters and deoxynivalenol contamination in winter wheat grain. *Eur. J. Agron.*, 25, 193–201.
- Bryant, J.E., Parkin, C.S., Wyatt, J.C. 1984. Partitioning of pesticide spray on and under a cereal canopy. *Proceedings British Crop Protection Council Conference - Pests & Diseases*, 1007–1012.
- Halley, S., Pederson, J., McMullen, M., Lukach, J. 1999. Sprayer Modifications for Enhanced Control of *Fusarium* Head Blight with Fungicides. In *Proceedings of the 1999 National Fusarium Head Blight Forum*, Sioux Fall, SD, USA, 5–7 December; pp. 51–52.
- Knewitz, H., Koch, H. 2010. Was die neuen Düsen bringen. *DLG-Mitteilungen*; 3: 68-71.
- McMullen, M., Halley, S., Pederson, J., Hofman, V., Moos, J., Panigrahi, S., Gu, D., Gregoire, T. 1999. NDSU Greenhouse Studies: Yield More Tips for Improved Fungicide Spraying for Wheat/Barley Head Scab Control; *Extension Report 56*; North Dakota State University: Fargo, ND, US, pp. 1–5.
- Mesterházy, Á., Bartók, T., Lamper, C. 2003. Influence of cultivar resistance, epidemic severity, and *Fusarium* species on the efficacy of fungicide control of *Fusarium* head blight in wheat and deoxynivalenol (DON) contamination of grain. *Plant Dis.*, 87, 1107–1115.
- Miller, P.C.H., Lane, A.G., Wheeler, H.C. 2002. Optimising fungicide application according to crop canopy characteristics in wheat. *Project Report No. 277*, HGCA, London.
- Parkin, C.S., Miller, P.C.H., Magan, N., Aldred, D., Gill, J., Orson, J.H. 2006. The deposition of fungicides on ears to control *Fusarium* ear blight and the mycotoxin contamination of grain. *Aspects of Applied Biology*; 77 (2): 445–452.
- Vajs, S., Leskošek, G., Simončič, A., Lešnik, M. 2008. Comparison of effectiveness of standard and drift-reducing nozzles for control of some winter wheat diseases. *Journal of Plant Diseases and Protection*; 115 (1): 23–31.
- Wiese, M.V. 1987. *Compendium of Wheat Diseases*, 2nd ed.; APS Press: St. Paul, MN, USA.; p. 112.
- Wilmer, H. 2011. Düsentechnik: Entscheidende Schnittstelle. *Magazin für professionelle Agrartechnik: Sonderdruck*, 2: 4–6.

TEHNIČNI UKREPI ZA ZMANJŠANJE IZPOSTAVLJENOSTI TRAKTORISTA NEVARNIM SNOVEM

Tomaž POJE¹

Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za kmetijsko tehniko, Ljubljana

IZVLEČEK

Prikazane so tehnične možnosti za zmanjšanje izpostavljenosti traktorista nevarnim snovem. Po novi homologacijski zakonodaji v Sloveniji in Evropi obstajajo štiri kategorije kabin z različno stopnjo varstva traktorista pred nevarnimi snovmi. Glede na analizo starih pa tudi novih traktorjev v Sloveniji je pri nanosu škropiva potrebno uporabljati tudi osebno varstveno opremo, če to zahteva uporabljeno fitofarmacevtsko sredstvo. Pri tem pa je pogosto pomanjkljiva raba ustrezne respiratorne zaščite.

Ključne besede: kategorija kabine, nevarne snovi, pesticidi, respiratorna zaščita, traktorist

ABSTRACT

TECHNICAL MEASURES TO REDUCE EXPOSURE OF TRACTOR DRIVER TO HAZARDOUS SUBSTANCES

Technical measures for reducing the exposure of tractor driver to hazardous substances were analysed. The new European and Slovene regulation on EC homologation procedure for agricultural or forestry tractors classifies four categories of tractor cabins according to the level of protection against hazardous substances. The evaluation of cabin protection of old and new tractors in Slovenia proposed that drivers should use personal protective equipment at the application of sprays. However, appropriate respiratory protection is often inadequate.

Keywords: cabin category, hazardous substances, pesticides, respiratory protection, tractor drivers

1 UVOD

Pri svojem delu so kmetje velikokrat v stiku z nevarnimi snovmi. Generalno lahko zapišemo, da je v slovenski družbi veliko govora o vplivu fitofarmacevtskih sredstev (FFS) na čebele, na podtalnico, o njihovih ostankih v hrani ali krmi in podobno. Malo pa se govori o vplivu FFS na uporabnika. Zlasti v trajnih nasadih so zaradi načina nanosa FFS traktoristi potencialno bolj izpostavljeni vplivu nevarnih snovi. Balsari (2010) ugotavlja, da je uporabnik FFS lahko izpostavljen nevarnim snovem že med pripravo škropiva (kar velja še zlasti za FFS v prahu). V fazi nanašanja škropiva pa so uporabniki bistveno bolj izpostavljeni kontaminaciji, če traktor nima kabine.

Urek s sodelavci (2012) ugotavlja, da je bilo leta 2009 v Sloveniji porabljenih (prodanih) 1272 ton FFS (aktivnih snovi). Navaja pa tudi, da raba FFS lahko predstavlja tveganje za ljudi in okolje (vpliv FFS na neciljne organizme).

V Nacionalnem izvedbenem načrtu za ravnanje z obstojnimi organskimi onesnaževali za obdobje od leta 2009 do leta 2013 ugotavljajo, da na Inštitutu za varovanje zdravja RS vodijo

¹ mag., univ. dipl. inž. agr., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana, e-mail: tomaz.poje@kis.si

podatke o zastrupitvah hospitaliziranih bolnikov. V Sloveniji je bilo v obdobju med leti 1997 in 2000 registriranih 9 smrtnih primerov ter 17 hospitalizacij zaradi zastrupitev ne glede na vrsto pesticida.

Proizvajalci fitofarmaceutskih sredstev, proizvajalci traktorjev in proizvajalci strojev za nanos FFS (škropilnic in pršilnikov) veliko pozornost namenjajo varnemu delu s FFS. Vsi poudarjajo potrebo po pravilni uporabi FFS in potrebo po uporabi ustreznih varnostnih ukrepov. Proizvajalci traktorjev tako v navodilih za uporabo opozarjajo, da tudi zaprta kabina popolnoma ne zavaruje traktorista pred nevarnimi snovmi. Če je v navodilih za uporabo fitofarmaceutskega sredstva predpisana uporaba osebnih varovalnih sredstev jih je potrebno uporabljati tudi v kabini. S takimi navodili se proizvajalci traktorjev zavarujejo pred morebitnimi tožbami zaradi zastrupitev.

Kupci traktorjev so si lahko izbrali tudi kabine, ki so opremljene s filtri za čiščenje zunanjega zraka, ki prihaja v kabino, pa tudi s filtri za čiščenje zraka, ki kroži znotraj kabine. Običajni papirnati filtri zrak očistijo prahu (trdnih delcev), niso pa učinkoviti za varstvo pred drugimi nevarnimi snovmi. Traktorist se ob delu s škropivi lahko bolje zavaruje z uporabo filtrov z aktivnim ogljikom (ogleni filtri). Taki filtri so navadno dodatna oprema. Ogleno filtre se namesti na traktor pred samim škropljenjem (pršenjem). Po koncu škropljenja jih je potrebno zamenjati z navadnimi papirnati filtri, sicer se ogleni filtri pri drugih kmetijskih delih hitro zamašijo. Ogleno filtre je potrebno menjati enkrat letno ali po določenem številu delovnih ur. Če med njihovo uporabo začutimo vonj po pesticidih, je potrebno preveriti, če so pravilno vstavljeni ali pa jih je potrebno zamenjati. Kljub temu, da se s takimi oglenimi filtri bistveno zmanjša vstop nevarnih snovi v kabino, je za še popolnejšo varnost potrebno upoštevati varnostne ukrepe proizvajalca fitofarmaceutskega sredstva.

V prispevku analiziramo novo evropsko in slovensko zakonodajo s področja zagotavljanja varnosti traktorista pred nevarnimi snovmi.

445

2 TEHNIČNI UKREPI ZA ZMANJŠEVANJE IZPOSTAVLJENOSTI TRAKTORISTA NEVARNIM SNOVEM

Sodobna traktorska kabina lahko predstavlja ustrezno varstvo pri nanosu fitofarmaceutskih sredstev, če je zrak, ki prihaja v kabino popolnoma brez nevarnih snovi, če lahko v kabino vstopa le prefiltriran (čist) zrak, če se v kabino vnaša dovolj čistega zraka, če se ta čisti zrak stalno dobavlja v kabino, če traktorist uporablja čisto obleko v kabini, če se pesticidi ne hranijo v kabini itd.

Committee for European Standardisation (CEN) - Evropski komite za standardizacijo je že leta 2009 sprejel dva standarda povezana z varstvom traktorista pred nevarnimi snovmi. Slovenski inštitut za standardizacijo (SIST) je ta dva standarda prevzel julija 2010. To sta SIST EN 15695-1:2010 in SIST EN 15695-2:2010. V njih je govora o kmetijskih traktorjih in strojih z lastnim pogonom za varstvo rastlin ter se posvečata »Zaščiti posluževalca (voznika) pred nevarnimi snovmi«. Prvi del je namenjen vrstam kabin, zahtevam in postopkom preizkušanja. Drugi del natančno določa specifikacije filtrov ter zahteve in postopke njihovega preskušanja.

Evropska komisija je 11. avgusta 2010 sprejela tudi Direktivo 2010/52/EU v kateri je v prilogi II in poglavju 3.3 natančno določeno »Preprečevanje stika z nevarnimi snovmi«. To evropsko direktivo je Slovenija implementirala v tehnične specifikacije za kmetijske in gozdne traktorje v skladu s Pravilnikom o odobritvi kmetijskih in gozdnih traktorjev (homologacija traktorjev) objavljenim v Uradnem listu RS, št. 52/2011 z dne 29. 6. 2011. Za predpise, povezane z varstvom traktorista pred nevarnimi snovmi, je bila izdana Tehnična specifikacija TSV – 422 (izdaja 03). Ta tehnična specifikacija je začela veljati 1. marca 2011, z vsemi prehodnimi obdobji pa stopi v popolno veljavo 1. marca 2013.

TSV – 422 (izdaja 03) vsebuje točko 3 »Dodatne varnostne zahteve za posebne uporabe« in točko 3.3 »Preprečevanje stika z nevarnimi snovmi«. Tu piše, da zahteve EN 15695-1:2009 veljajo za vse traktorje iz točke (j) člena 2 Direktive 2003/37/ES, če se ti uporabljajo pod pogoji, ki lahko povzročajo tveganje stika z nevarnimi snovmi - v tem primeru mora kabina izpolnjevati zahteve 2, 3, ali 4 stopnje tega standarda. Merilo za izbiro stopnje mora biti opisano in v skladu z navedenimi stopnjami iz navodil za uporabo. Za škropljenje s pesticidi mora kabina izpolnjevati zahteve stopnje 4. Navodila za uporabo pa morajo vsebovati poleg zahtev iz standarda ISO 3600:1996 tudi stopnjo varstva pred nevarnimi snovmi, če je ta na voljo.

To je še posebej poudarjeno v točki 4.5.3 »Delo s pršilniki za posevke (nevarnost škodljivih snovi)«, kjer piše naslednje: »Stopnja varstva pred nevarnimi snovmi v skladu z EN 15695-1:2009 mora biti navedena v navodilih za uporabo«.

Standard EN 15695 določa štiri kategorije (stopnje) kabin glede na stopnjo varstva traktorista pred nevarnimi snovmi. Te kategorije oziroma stopnje so prikazane v preglednici 1.

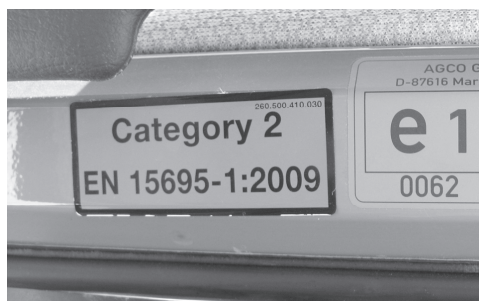
Preglednica 1: Kategorije kabin in stopnja varstva traktorista pred nevarnimi snovmi glede na standard SIST EN 15695

Table 1: Cabin classification and protection level of the operator (driver) against hazardous substances in accordance to EN 15695 standard.

Oznaka kabine	Stopnja varstva
Kategorija 1	Ne nudi varstva pred snovmi, ki škodijo zdravju
Kategorija 2	Varstvo pred trdnimi delci
Kategorija 3	Varstvo pred trdnimi delci in aerosoli, ne pred hlapi
Kategorija 4	Varstvo pred trdnimi delci, aerosoli in hlapi (parami)

446

Da lahko nadomesti osebno varstveno opremo traktorista mora biti kabina popolnoma zaprta, s prisilno ventilacijo (air condition), z nadtlakom, nepropustna za trdne delce, nepropustna za pline in pare. Hkrati mora biti kabina testirana in primerno certificirana.



Slika 1: Nalepka (tablica) v kabini traktorja označuje vrsto kabine glede na stopnjo zaščite v skladu s zahtevami SIST EN 15696.

Figure 1: Tractor cabin with a visible cabin classification label (plate) in accordance with EN 15696.

Spomladi 2012 je bila izvedena analiza traktorjev, ki so trenutno v ponudbi (prodaji) v Sloveniji. Izsledki analize poročajo, da nekateri proizvajalci že upoštevajo omenjena standarda (direktivo in TSV 422/03), drugi pa še ne. Nekateri traktorji imajo na kabini pritrjeno dodatno tablico z oznako kategorije (stopnje) kabine glede na standard 15695-1, stopnjo varstva pa navedeno tudi v navodilih za uporabo. Drugi traktorji imajo stopnjo varstva napisano le v navodilih, na sami kabini pa še ni ustrezne ploščice. Večjo varnost traktoristu zagotavljajo kabine z nadtlakom in oglenimi filtri. Kljub temu pa jih proizvajalci označijo s

»Kategorija 2 (stopnja 2)«, ker ne zagotavljajo popolnega varstva pred nevarnimi snovmi. To pomeni, da zagotavlja varstvo pred prahom – trdnimi delci in le delno pred drugimi nevarnimi snovmi. Če aplicirano fitofarmaceutsko sredstvo zahteva uporabo osebne varstvene opreme, jo mora traktorist uporabljati tudi v taki sicer zelo »varni« kabini. Do julija 2012 je certifikat za kategorijo 4 (stopnja 4) pridobila le samovozna škroplilnica Challenger RoGator 600.

Med najpomembnejšo osebno varstveno opremo spada tudi respiratorno varstvo, ki uporabniku zagotavlja nemoteno dihanje in vdihavanje »nekontaminiranega« zraka, brez nevarnosti za zdravje. To respiratorno varstvo je lahko relativno preproste izvedbe, kjer gre za respiratorje s filtri (polmaske in celo obrazne maske s filtri), in bolj kompleksne izvedbe, kjer gre za ventilatorske sisteme (maska - čelada, ventilator in filtri). Čelade so izdelane iz steklenih vlaken in so relativno lahke. Ventilator je gnan z mikro električnim motorjem, pogon pa lahko dobiva iz električnega sistema traktorja (vtičnica za vžigalnik), iz baterij (akumulatorjev) ali preko adapterja za 220 V izmenične napetosti. V čeladi se ob delovanju ventilatorja vzpostavi majhen nadtlak zaradi vnosa prefiltriranega zraka. Ta nadtlak onemogoča vdor onesnaženega zraka pod čelado. Filtri so različni, izdelani pa v skladu s standardi EN 143 in EN 14387.

3 SKLEP

Problematika izpostavljenosti traktorista nevarnim snovem je zlasti v trajnih nasadih lahko zelo pereča. Tako evropska kot tudi slovenska zakonodaja skrbi za varstvo traktorista pred nevarnim snovmi. Z definiranjem kategorije kabine vgrajene na traktor ali samovozno škroplilnico je uporabnik FFS natančno seznanjen s stopnjo varstva, ki jo nudi traktor. Glede na velik delež traktorjev brez kabine ali pa s kabinami, ki ne nudijo dovolj velikega varstva, pa je potrebna tudi uporaba osebne varstvene opreme, če to uporabljeni FFS zahteva. Pri osebni varstveni opremi je v Sloveniji uporaba ustreznega respiratornega varstva še vedno premalo zaživila.

447

4 LITERATURA

- Balsari, P. 2010. Iniziative e proposte nel settore della protezione delle colture http://www.enama.it/it/pdf/atti_gasforum/2010/balsari.ppt (10.7.2012)
- DIREKTIVA KOMISIJE 2010/52/EU z dne 11. avgusta 2010 o spremembi Direktive Sveta 76/763/EGS glede potniških sedežev za kmetijske ali gozdarske traktorje na kolesih ter Direktive 2009/144/ES Evropskega parlamenta in Sveta o določenih sestavnih delih in značilnostih kmetijskih ali gozdarskih traktorjev na kolesih zaradi prilagoditve njihovih tehničnih določb <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:213:0037:0042:SL:PDF> (10.7.2012)
- Nacionalni izvedbeni načrt za ravnanje z obstojnimi organskimi onesnaževali za obdobje od leta 2009 do leta 2013 REPUBLIKA SLOVENIJA VLADA REPUBLIKE SLOVENIJE 9. 7. 2009 http://www.uk.gov.si/fileadmin/uk.gov.si/pageuploads/pdf/NIP_POPsAvg09.pdf (10.7.2012)
- SIST EN 15695-1:2010: Kmetijski traktorji in stroji z lastnim pogonom za varstvo rastlin - Varstvo posluževalca (voznika) pred nevarnimi snovmi - 1. del: Vrste kabin, zahteve in postopki preskušanja
- SIST EN 15695-2:2010: Kmetijski traktorji in stroji z lastnim pogonom za varstvo rastlin - Varstvo upravljavca (voznika) pred nevarnimi snovmi - 2. del: Filtri, zahteve in postopki preskušanja
- TEHNIČNA SPECIFIKACIJA TSV – 422 (izdaja 03) o merah in vlečenih masah, regulatorju vrtilne frekvence in varstvu pogonskih sklopov, štrlečih delov in koles, dodatnih varnostnih zahtevah za posebne uporabe, navodilih za uporabo, zasteklitvi, mehanskih priključnih napravah, ploščici proizvajalca in upravljanju zavor vlečenega vozila http://www.mzip.gov.si/fileadmin/mzip.gov.si/pageuploads/DPR/MOTORNA_VOZILA/TSV_-_traktorji/TSV_422-03.pdf (10.7.2012)
- Urek, G., Knapič, M., Urbančič Zemljič, M., Škerlavaj, V., Simončič, A., Persolja, J., Rak Cizej, M., Radišek, S., Lešnik, M. 2012. Raba fitofarmaceutskih sredstev in preučitev možnosti za njihovo racionalnejšo uporabo v Sloveniji. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije, 2012. 163 str.

INFLUENCE OF DATA NORMALIZATION METHOD IN THE ANALYSIS OF DIFFERENTIALLY EXPRESSED GENES WITH MICROARRAYS

Barbara Gerič STARE¹, Peter DOLNIČAR², Irena MAVRIČ PLEŠKO³, Vladimir MEGLIČ⁴

¹ Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

² Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za poljedelstvo in semenarstvo, Ljubljana

ABSTRACT

DNA microarrays, a collection of microscopic DNA spots attached to a solid surface, can be used to simultaneously measure the expression levels of large numbers of genes. We have used the Potato Gene Expression Microarray produced by Agilent (POCI microarray) to determine differentially expressed (DE) genes in potato tubers due to infection with Potato virus Y (PVY). The POCI microarray is currently the most complete representation of the potato transcriptome and widely used in the potato research community. There is no universal consensus method on how to analyse the microarray data. In this work we have assessed influence of data normalization method in the analysis of differentially expressed genes with microarrays. Normalization enables correction of systematic differences between samples, which do not represent true biological variation between samples. Three selected methods for data normalisation between microarrays; quantile normalization, scale normalization and variance stabilizing normalization resulted in 190, 151 and 77 DE genes between 56 biological samples (36 infected with PVY and 20 uninfected), respectively. Among these, 67 genes were determined as DE with all three methods, while further 78 genes were determined as DE with quantile and scale normalization methods. There was in general a good coincidence of genes determined as DE genes with all three methods. However, different normalisation methods revealed considerably different number of DE genes.

Key words: data normalization, microarray, potato, potato virus Y, PVY, *Solanum tuberosum*

VPLIV IZBIRE METODE NORMALIZACIJE PODATKOV PRI ANALIZI RAZLIČNO IZRAŽENIH GENOV Z MIKROMREŽAMI

IZVLEČEK

DNA mikromreže so zbirka različnih molekul DNA vezanih na mikroskopsko majhna mesta na trdni podlagi, ki se lahko uporablja za hkratno merjenje nivoja izražanja velikega števila genov. Mikromreže za proučevanje izražanja genov krompirja, ki jih proizvaja podjetje Agilent (POCI mikromreže), smo uporabili za določitev nivoja izražanja genov v gomoljih krompirja okuženega s krompirjevim virusom Y (*Potato virus Y* - PVY). POCI mikromreža trenutno predstavlja najpopolnejši transkriptom krompirja in se v zadnjih letih v veliki meri uporablja v raziskavah krompirja. Za analizo podatkov pridobljenih z mikromrežami ne obstaja ena sama splošno sprejeta metoda. V tem delu smo ocenili vpliv metode normalizacije podatkov pri analizi različno izraženih genov z mikromrežami. Normalizacija omogoča popravek sistematičnih razlik med vzorci, ki ne predstavljajo resnične biotične razlike med vzorci. Tri izbrane metode za normalizacijo podatkov med mikromrežami; kvartilna normalizacija,

¹ dr., univ. dipl. biol., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

² mag., univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ dr., univ. dipl. biol., prav tam

⁴ dr., univ. dipl. inž. agr., prav tam

normalizacija z uravnoteženjem in normalizacija s stabilizacijo variance so določile 190, 151 oz. 77 genov kot različno izraženih pri analizi 56 biotičnih vzorcev (36 okuženih s PVY in 20 neokuženih). Med njimi je bilo 67 genov določenih z vsemi tremi metodami, medtem ko je bilo dodatnih 78 genov določenih s kvartilno normalizacijo in normalizacijo z uravnoteženjem. Pokazali smo dobro skladnost pri določitvi različno izraženih genov z vsemi tremi metodami, čeprav smo z različnimi metodami določili občutno različno število genov.

Ključne besede: krompir, krompirjev virus Y, mikromreže, normalizacija podatkov, PVY, *Solanum tuberosum*

1 INTRODUCTION

DNA microarrays, a collection of microscopic DNA spots attached to a solid surface, can be used to measure the expression levels of large numbers of genes simultaneously. Process of microarray measurement consists of several steps, from determining the biological question, to the experimental design, carrying out the wet part of microarray experiment, image analysis, data normalization, data analysis of differentially expressed genes, biological verification and interpretation. Each step is presenting researchers with different changes, options and decisions that need to be made. Further, there is no universal consensus method on how to analyse the microarray data. Here we will concentrate only on data normalization methods and some aspects of experimental design.

Normalisation enables correction of systematic differences between samples, which do not represent true biological variation between samples. Normalisation between arrays normalizes expression intensities so that the intensities or log-ratios have similar distributions across a set of arrays. There are several methods for data normalization between arrays. Quantile normalization was proposed by Bolstad *et al.* (2003) for Affymetrix-style single-channel arrays and by Yang and Thorne (2003) for two-color cDNA arrays. Quantile normalization ensures that the intensities have the same empirical distribution across arrays and across channels. The scale normalization method was proposed by Yang *et al.* (2001, 2002) and is further explained by Smyth and Speed (2003). The idea is simply to scale the log-ratios to have the same median-absolute-deviation (MAD) across arrays. The Variance Stabilizing Normalization (vsn) algorithm performs background correction and normalization simultaneously (Huber *et al.*, 2002).

In this work we have assessed the influence of data normalization method in the analysis of differentially expressed genes with microarrays. We have used the Potato Gene Expression Microarray produced by Agilent (also known as POCI microarray) to determine differentially expressed (DE) genes in potato tubers due to infection with *Potato virus Y* (PVY). The POCI microarray is currently the most complete representation of the potato transcriptome and widely used in the potato research community.

2 MATERIAL AND METHODS

Potato tuber production and storage experiment of potato tubers at different temperature regimes have been described previously (Dolničar *et al.*, 2011). Total RNA from tuber tissue was extracted with RNeasy Plant Mini kit (Qiagen). RNA quality and quantity were determined with 2100 Bioanalyser (Agilent Technologies) and NanoDrop ND-1000 UV-VIS spectrophotometer (ThermoScientific). The spiked total RNA was reverse transcribed into cDNA and then converted into labeled cRNA by in-vitro transcription with Quick Amp Labeling Kit One-Color (Agilent Technologies) incorporating Cyanine-3-CTP. Cyanine-3-labeled cRNA samples were fragmented and prepared for One-Color based hybridization (Gene Expression Hybridization Kit, Agilent Technologies). Samples were hybridized at 65 °C for 17 hrs on

Potato Oligo Chip Initiative (POCI) Microarrays (4x44K format, AMADID 015425, Agilent). The microarrays were washed with increasing stringency using Gene Expression Wash Buffers (Agilent Technologies) followed by drying with acetonitrile (SIGMA). Fluorescent signal intensities were detected with Scan Control 8.4.1 Software (Agilent Technologies) on the Agilent DNA Microarray Scanner and extracted from the images using Feature Extraction 10.5.1.1 Software (Agilent Technologies) and the design file 015425_D_F_20061105.xml.

Within-array normalization and background correction were performed by Feature Extraction 10.5.1.1 Software (Agilent Technologies). Raw data of the samples was analysed in R (v. 2.12.2) statistical environment using Bioconductor package (v. 2.7) the limma package (Linear Models for Microarray Analysis). The data was analysed using single emission channel.

Three methods for data normalisation between microarrays (quantile normalization, scale normalization and variance stabilizing normalization) were applied to 56 biological samples representing 36 tubers infected with PVY and 20 uninfected tubers. Data was fit to the linear model and empirical Bayes statistics for differential expression was applied. Genes were determined as DE when B-value was above 4.0, adjusted p-value below 0.001, and lfc-value (log Fold Change = difference in expression level of a certain gene between two treatments) was at least 1 or above. Venn diagram was constructed with the on-line tool Make Venn Diagrams by Max-Planck Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie (<http://mapman.mpimp-golm.mpg.de/general/venn/index.html>). To draw conclusions about the biological meaning of DE genes detected with microarrays, we visualized the data based on clustering of the genes to metabolic pathways and processes in the cell with the tool MapMan and mapping GoMapMan, which includes ontology for gene functions (www.gomapman.org).

3 RESULTS AND DISCUSSION

Normalisation between arrays normalizes expression intensities so that the intensities or log-ratios have similar distributions across a set of arrays (Figure 1).

Three selected methods for data normalisation between microarrays implemented in limma package; quantile normalization, scale normalization and variance stabilizing normalization resulted in 190, 151 and 77 DE genes between 56 biological samples (36 infected with PVY and 20 uninfected), respectively. Among these, 67 genes were determined as DE with all three methods, while further 78 genes were determined as DE with quantile and scale normalization methods. Venn diagram illustrates relations of sets of DE genes determined with three different normalisation methods (Figure 2).

Different normalisation methods revealed different number of DE genes. There was a good coincidence of genes determined as DE genes with quantile and scale normalization. The variance stabilizing normalization resulted in the smallest number of DE genes. The reason for this underestimation of DE genes may lay in the fact that the vsn algorithm performs not only normalization but simultaneously also a background correction. However, the background correction was already performed on our data automatically at the step of image acquisition. Therefore we conclude that the variance stabilizing normalization is not a good choice of normalisation method for our data.

Every spot on the POCI array representing particular gene has assigned a description of the biological function (BIN). The three different normalisation methods: quantile, scale and variance stabilizing normalization have determined DE genes from 18, 15 and 13 BINs respectively. Identical BINs were determined with all three methods and some additional BINs were determined with the first two methods (Figure 3, Table 1). BIN 20 comprising stress related genes was determined with quantile normalization and scale normalization method but not with variance stabilizing normalization.

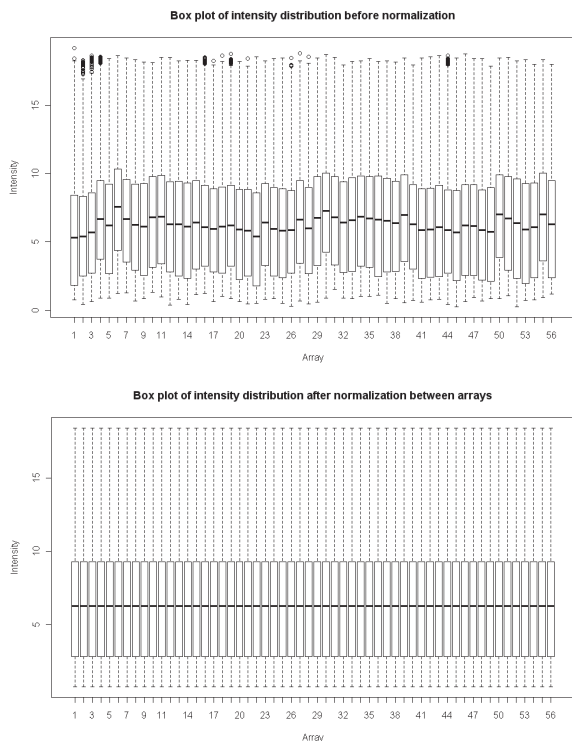


Figure 1: Box-plots showing distribution of expression intensities of microarray spots between arrays before normalisation (above) and after normalisation (below).

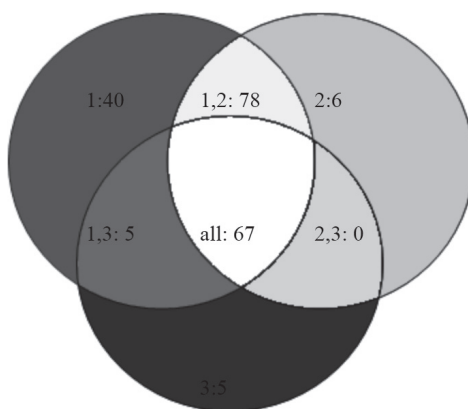


Figure 2: Venn diagram representing determined DE genes applying three different normalisation methods; (1) quantile normalization, (2) scale normalization and (3) variance stabilizing normalization.

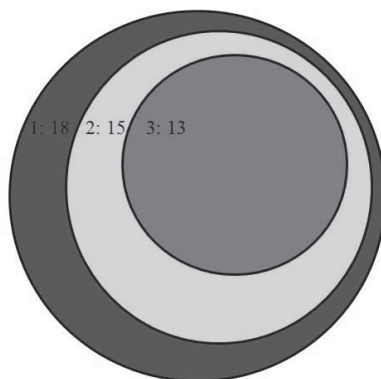


Figure 3: Venn diagram representing determined BINs of DE genes with three different normalisation methods; (1) quantile normalization, (2) scale normalization method and (3) variance stabilizing normalization.

Table 1: List of number of DE genes and BINs determined with three different normalisation methods; (1) quantile normalization, (2) scale normalization method and (3) variance stabilizing normalization.

452

No.	BIN	Biological function	Normalization method		
			1	2	3
1	1	photosynthesis	45	42	16
2	7	oxidative pentose phosphate pathway	1	0	0
3	9	mitochondrial electron transport, ATP synthesis	1	0	1
4	10	cell wall	5	3	1
5	11	lipid metabolism	5	4	1
6	13	amino acid metabolism	4	1	2
7	16	secondary metabolism	12	9	4
8	17	hormone metabolism	5	3	3
9	19	tetrapyrrole synthesis	6	7	5
10	20	stress	2	1	0
11	21	redox	3	2	0
12	23	nucleotide metabolism	1	0	0
13	26	misc	16	14	6
14	27	RNA	7	6	4
15	29	protein	8	6	3
16	33	development	3	2	0
17	34	transport	4	3	3
18	35	not assigned	63	48	28

4 CONCLUSIONS

Selected method for normalization of data between arrays can have substantial impact on the outcome of the analysis therefore optimal normalisation method should be carefully selected for the given experiment. For our experimental design quantile method was the most suitable, as it revealed the highest number of DE genes and BINs. On the other hand, the variance stabilizing normalization was not suitable for our data as vsn algorithm performs not only

normalization but simultaneously also a background correction. This resulted in underestimation of DE genes as our data had a previous automatic step of background correction.

5 ACKNOWLEDGMENTS

This work was financially supported by the Slovenian Research Agency (ARRS), grant no. L4-2400-0401 and the Ministry of agriculture, forestry and food of Republic of Slovenia (MKGP).

6 REFERENCES

- Bolstad, B.M., Irizarry R.A., Astrand, M., Speed, T. P. 2003. A comparison of normalization methods for high density oligonucleotide array data based on bias and variance. *Bioinformatics*, 19: 185-193.
- Dolničar, P., Mavrič Pleško, I., Meglič, V. 2011. Long-term cold storage suppress the development of tuber necrosis caused by PVY-NTN. *American journal of potato research*, 4, 88: 318-323.
- Huber, W., von Heydebreck, A., Sültmann, H., Poustka, A., Vingron, M. 2002. Variance stabilization applied to microarray data calibration and to the quantification of differential expression. *Bioinformatics*, 18 Supplement 1: S96-S104.
- Smyth, G.K., Speed, T.P. 2003. Normalization of cDNA microarray data. *Methods*, 31: 265-273.
- Yang, Y.H., Dudoit, S., Luu, P., Speed, T.P. 2001. Normalization for cDNA microarray data. In: Bittner, M.L., Chen, Y., Dorsel, A.N., Dougherty E.R. (eds.). *Microarrays: Optical Technologies and Informatics, Proceedings of SPIE*, 4266: 141-152.
- Yang, Y.H., Dudoit, S., Luu, P., Lin, D.M., Peng, V., Ngai, J., Speed, T.P. 2002. Normalization for cDNA microarray data: a robust composite method addressing single and multiple slide systematic variation. *Nucleic Acids Research*, 30,4: e15.
- Yang, Y.H., Thorne, N.P. 2003. Normalization for two-color cDNA microarray data. In: Goldstein D.R. (ed.). *Science and Statistics: A Festschrift for Terry Speed, IMS Lecture Notes - Monograph Series*, 40: 403-418.

DETERMINATION OF TWO HERBICIDES IN DRAINAGE WATER

Sanja LAZIĆ¹, Dragana ŠUNJKA^{2*}, Nada GRAHOVAC³, Snežana JAKŠIĆ⁴,
Slavica VUKOVIĆ⁵

^{1,2,5} University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department for Environmental and Plant
Protection, Novi Sad, Serbia

^{3,4} Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, Serbia

ABSTRACT

Pesticides used in agricultural production for weeds and pests control can migrate to surface and ground water after application. Their presence in water used for irrigation can cause yield reduction and decrease product quality. This is very important considering importance of water quality for agricultural production, especially organic. Some of commonly detected pesticides in surface water are chloracetanilide herbicides, acetochlor and alachlor. They are herbicides widely used for control of broadleaf weeds and annual grasses in row crops. This study was carried out to evaluate the content of acetochlor and alachlor in drainage water, which is widely used in agricultural production for irrigation. Water samples were collected from drainage canals in agricultural fields in the region of Vojvodina Province, Serbia. This part of Serbia is well-known as region with intensive agricultural production. The sampling was performed during June 2012, on twelve potential risk sites. Solid-phase extraction on a C₁₈ ENVITM SP disc (47 mm) was used for isolation of the investigated pesticides, acetochlor and alachlor, from water samples. Prior to extraction disc was conditioned with 5 ml of methanol and 5 ml of deionized water. Afterward, water sample was filtered through the disc. After drying the disc, acetochlor and alachlor were eluted with mixture of dichloromethane and n-hexane (40/60, v/v) and evaporated to dryness. Finally, the extract was diluted in 1 ml methanol and analyzed. Analysis was performed with a Hewlett–Packard (HP) model 5890 Series II gas chromatograph with EC Ni⁶³ detector (GC/ECD). Most of the analyzed water samples were found to be contaminated. Content of acetochlor and alachlor were ranged from 0.02-0.41 µg/l and 0.05-0.78 µg/l, respectively. This could be due to the frequent usage of the above-mentioned herbicides in these localities.

Key words: acetochlor, alachlor, drainage water, residues

1 INTRODUCTION

Contamination of surface water with pesticides may be due to drift or runoff from areas where they was applied, while the result of contamination of groundwater leaching into deeper soil layers under the influence of precipitation. This is particularly obvious in areas with sandy soil and intensive pesticide application. The European Union by Framework Directive 2000/60/EC defined the guidelines in protecting and improving the quality of all water resources - rivers, lakes, groundwater, coastal water, etc. Directive 2008/105/EC is updated the Directive 2000/60/EC and by Annex X defines the List of priority substances in the field of water policy. List includes 33 pollutant - 9 are pesticides, including alachlor.

¹ PhD, Trg Dositeja Obradovića 8, Novi sad, Serbia

² PhD, *ibid.*, e-mail: draganas@polj.uns.ac.rs

³ MSc, Maksima Gorkog 30, Novi sad, Serbia

⁴ BSc, *ibid.*

⁵ PhD, Trg Dositeja Obradovića 8, Novi sad, Serbia

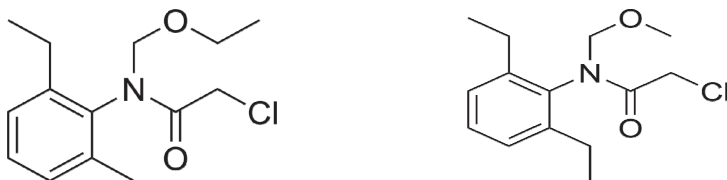


Figure 1: Structure of acetochlor and alachlor

Alachlor [2-chloro-2,6-diethyl-N-(methoxymethyl)acetanilide] (Fig. 1) has been registered since 1969 as a preemergence, early postemergence, or preplant incorporated herbicide for control of most annual grasses or certain broadleaf species. Alachlor is most heavily used on corn, soybeans, and grain sorghum (Schwab *et al.*, 2005).

The intensive use of alachlor herbicides in contemporary agricultural production during previous decades, has led to the accumulation of residues of alachlor and its metabolites in the environment, which endangers surface and ground water.

In order to replace the more widely used corn herbicides alachlor, atrazine, etc., acetochlor was registered for use, first in the USA. Acetochlor is a selective preemergent herbicide used to control broadleaf weeds and annual grasses in corn (Fig. 1). During the first season it was used, acetochlor was detected in rain and surface water in Minnesota at concentration of 0.01-0.25 $\mu\text{g/l}$. It was predictable, considering that acetochlor has a water solubility of 223 mg/l and it is moderately to very mobile in soil.

Besides the occurrence of pesticide residues in drinking water, control of their presence in drainage water used in agricultural production is very important. This primarily refers to the river water and groundwater, considering that the water and land quality in conventional production, but especially in organic agriculture, are extremely important. The presence of pesticide residues in these matrices may cause yield reduction and decrease product quality, due to its uptake.

This research was carried out to evaluate the content of chloroacetanilide pesticides, acetochlor and alachlor, in drainage water in the region of Vojvodina.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Sampling area

Water samples were collected from drainage canals in agricultural fields in the region of Vojvodina Province, Serbia. This part of Serbia is well-known as region with intensive agricultural production. The sampling was performed during June 2012, on twelve potential risk sites (Fig. 2).

2.2 Analytical procedure

The standard solution of acetochlor and alachlor were prepared in mixture of ACN/methanol (50/50, v/v) in concentration interval of 0.01 – 2 $\mu\text{g/ml}$. For the recovery test model solution (500 ml of tap water enriched with 1 ml of acetochlor and alachlor standard solution in concentration 0.01 $\mu\text{g/ml}$, 0.1 $\mu\text{g/ml}$ and 1 $\mu\text{g/ml}$) was used.

2.3 SP extraction

The extraction of pesticide from water was performed using ENVITM-C18 DSK 47 mm (Supelco, Cat. No. 5-7171, Bellafonte, PA) and glass apparatus for solid-phase (SP)

extraction for disc of 47 mm. Prior to extraction disc was preconditioned with 5 ml of methanol, followed by 5 ml of ultrapure water, at a rate of 2 ml/min. Then model solution was filtered through the disc under vacuum at rate of 10 ml/min. After the disc was dried, pesticides eluted from disk with 6 ml of dichloromethane/n-hexane (40/60, v/v) and evaporated to dryness. The extract was dissolved in 1 ml of methanol, ultrasonically homogenized and analyzed by GC-ECD. Injecting volume was 3 μ l. Quantification was performed using external standard method. The calibration solutions were analyzed before and after each water samples.



Figure 2: The geographic position of drainage water samples in the area of Vojvodina

2.4 GC-ECD analysis

Content of acetochlor and alachlor was determined using a Hewlett-Packard model 5890 Series II gas chromatograph equipped with Supelco column 24048 (SPBTM-5, 30 m \times 0.32 mm id, film thickness 0.25 mil) and an electron capture detector Ni⁶³ (ECD) (Table 1). Helium was used as the carrier gas at a flow rate of 1 ml/min. The splitless injection was applied.

Table 1: GC/ECD conditions for acetochlor and alachlor determination

	Temperature
Inlet column temperature	100 °C
Rate	9 °C/min
Final column temperature	250 °C
Injector	250 °C
EC Detector	300 °C

Definition of chromatographic conditions was performed by determining the following chromatographic parameters – linearity, repeatability of the peak area and limit of quantification (LOQ). Linearity of detector response was determined by injecting standard of acetochlor and alachlor at concentrations of 0.01 to 2 μ g/ml. Standard solution for calibration curve was defined as the dependence of the peak area and concentration and expressed as the correlation coefficient (R^2). Repeatability of detector response was determined by injecting the chlorpyrifos standard solution (0.1 μ g/ml) five times and tested by calculating the variation coefficient. LOQ was calculated using the formula $10 \times Sa/a$, where the Sa is standard deviation and a is the slope of the calibration curve.

3 RESULTS AND DISCUSSIONS

3.1 Method validation

Using the presented conditions, the obtained value of correlation coefficient (Table 1) and coefficient of variation (CV=2.62%) for acetochlor and alachlor indicating that achieved good linearity and high reproducibility and LOQ was 0.01 µg/ml. These data are within the accepted range for determination of pesticide residue in matrices such as water.

Table 1: Analytical parameters for GC-ECD determination of acetochlor and alachlor

Parameter	Concentration interval	Retention time	Correlation coefficient	LOQ	Recovery
Analit	µg/ml	Min		µg/ml	%
Acetochlor	0.01-2	10.955	0.993	0.01	97±1.9
Alachlor		10.737	0.975		96±2.5

For the extraction of pesticides from water C₁₈ solid phase in the form of columns is mostly used. (Kolpin *et al.*, 1996; Louter *et al.*, 1992). This study used a C₁₈ solid phase in the form of disc. Activation and conditioning of the disk is carried out by applying methanol. Otherwise, the hydrophobic C₁₈ ligands are entangled and reduce the active surface interaction with the analytes from the water. Average value of the recoveries for acetochlor and alachlor at three fortification levels was 97% and 96%, with associated relative standard deviations (RSDs) of 1.9 and 2.5%, respectively.

457

3.2 Monitoring

The European Union (Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998) specifies a limit (MRL) of 0.1 µg/l for individual pesticides in water intended for human consumption, while the total concentration of pesticides should not exceed 0.5 µg/l.

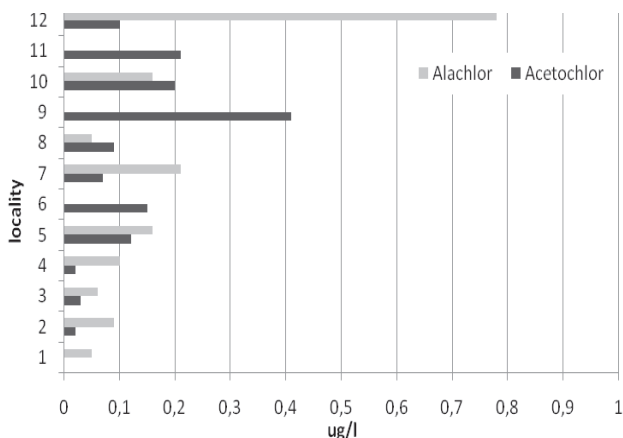


Figure 2: Content of acetochlor and alachlor in drainage water samples in the Vojvodina region

Obtained results show that the extraction and analysis procedures are efficient for determination of acetochlor and alachlor in water samples, considering that the EU MRL for individual pesticide in water for human consumption is 0.1 µg/l. This optimized method was

applied to real water samples. Drainage water samples were taken from several locations on the territory of Vojvodina during 2012. The presence of acetochlor was detected in 92% of analyzed drainage water samples, while alachlor founded in 75% samples. The corresponding range of acetochlor concentrations was 0.02-0.41 µg/l and 0.05-0.78 µg/l for alachlor. Pollution of surface waters by tested pesticides may be the result of drift or runoff from fields that have been applied. In this sampling program content of acetochlor and alachlor active ingredients were analyzed. Some investigators (Kalkhoff *et al.*, 1998) reported that metabolites of acetochlor and alachlor were detected much more frequently than their respective parent compounds. This is probably because the metabolites have higher water solubility than the parent compounds.

4 CONCLUSIONS

In this work SPE-GC-ECD method for determination of acetochlor and alachlor in water was developed. High values of the recovery suggested the possible use of this method for acetochlor and alachlor extraction from different type of water, especially bearing in mind that the described method does not use large amounts of toxic organic solvents. This optimized method was applied for analysis of drainage water samples from Vojvodina region. The corresponding range of acetochlor and alachlor content in water samples was 0.02-0.41 µg/l and 0.05-0.78 µg/l, respectively.

5 ACKNOWLEDGEMENT

The authors acknowledge financial support from the Ministry of Education and Science, Republic of Serbia, grant III43005.

6 REFERENCES

- Kalkhoff, S.J., Kolpin, D.W., Thurman, E.M., Ferrer, I., Barcelo, D. 1998. Environmental science and technology, 32:1738-1740.
- Kolpin, D.W., Thurman, E.M., Goolsby, D.A. 1996. Occurrence of selected pesticides and their metabolites in near-surface aquifers of the Midwestern United States. Environmental science and technology, 30:335-340.
- Louter, H.J.A., Van Beekvelt, A.C., Cid Montanes, P., Slobodnik, J., Vreuls, J.J., Brinkman, Th.U.A., 1996. Analysis of microcontaminants in aqueous samples by fully automated on-line solid-phase extraction–gas chromatography-mass selective detection. Journal of Chromatography A, 725:67-83.
- Official Journal of the EC L327/1, 23 October 2000, Directive 2000/60/EC.
- Official Journal of the EC L3487/84, 24 December 2008, Directive 2008/105/EC.
- Schwab, A.P., Splichal, P.A., Banks, M.K., 2006. Persistence of atrazine and alachlor in groundwater aquifers and soil. Water, air and soil pollution, 171: 203–235.

PALLAS® 75 WG - NOVI HERBICID ZA ZATIRANJE PLEVELOV V PŠENICI, RŽI IN TRITIKALI

Drago MAJCEN¹, Primož STEPIC², Andrej KOS³, Boris PARADŽIK⁴

KARSIA, Dutovlje, d.o.o., Ljubljana

IZVLEČEK

Pallas® 75 WG je novi triazolopirimidin-sulfonamidni herbicid za zatiranje širokega spektra enoletnih ozkolistnih in širokolistnih plevelov v pšenici, rži in tritikali, po vzniku plevelov. Pallas® 75 WG vsebuje učinkovino piroksulam, ki jo je razvilo podjetje Dow AgroSciences. Piroksulam inhibira rastlinski encim acetolaktat sintazo (ALS), ki je bistven za sintezo razvejanih verig aminokislin valina, levcina in izolevcina. Inhibicija tvorbe aminokislin posledično inhibira delitev celic in povzroči propad občutljivih plevelov. Piroksulam je sistemičen, floemsko in ksilemsko mobilni herbicid, ki se absorbira preko listov, stebela in korenin. Piroksulam zatira ključne travne plevela kot so *Alopecurus* spp., *Apera spica-venti*, *Avena* spp., *Bromus* spp., *Lolium* spp. in ostale. Piroksulam prav tako dobro zatira širokolistne plevela v žitih (razen ječmena in ovs) kot so *Amaranthus* spp., *Anthemis arvensis*, *Brassica* spp., *Capsella bursa-pastoris*, *Galeopsis tetrahit*, *Galium aparine*, *Geranium* spp., *Helianthus annuus*, *Matricaria* spp., *Myosotis arvensis*, *Polygonum persicaria*, *Raphanus raphanistrum*, *Senecio vulgaris*, *Stellaria media*, *Veronica* spp., *Vicia* spp., *Viola tricolor* in ostale. Optimalno delovanje na plevela se doseže, ko so le ti v razvojni fazi 1-5 razvitih listov pa do prvega kolenca (enoletni travni plevel). Pallas® 75 WG se priporoča uporabljati v odmerku 125-250 g/ha, skupaj z dodanim močilom (NU-FILM-17) za izboljšanje delovanja. Uporaba aktivne snovi piroksulam po hektarju je zelo nizka, samo 9 - 18,75 g, odvisna pa je od zastopanosti vrst plevela. Pallas® 75 WG je herbicid z zelo ugodnim okoljskim in toksikološkim profilom.

Ključne besede: herbicid, piroksulam, pleveli, pšenica, rž, tritikala

ABSTRACT

PALLAS® 75 WG - NEW HERBICIDE FOR WEEDCONTROL IN WHEAT, RYE AND TRITICALE

Pallas® 75 WG is a new triazolopyrimidine-sulfonamide herbicide that provides broad spectrum postemergence annual grass and broadleaf weed control in wheat, rye and triticale. Pallas® 75 WG contains active ingredient pyroxsulam, developed by Dow AgroSciences. Pyroxsulam inhibits the plant enzyme acetolactate synthase (ALS), which is essential for the synthesis of branched-chain amino acids valine, leucine and isoleucine. Inhibition of amino acid production subsequently inhibits cell division and causes death in susceptible weeds. Pyroxsulam is a systemic, phloem and xylem mobile herbicide that is absorbed via leaves, shoots and roots. Pyroxsulam provides control of key annual grasses including *Alopecurus* spp., *Apera spica-venti*, *Avena* spp., *Bromus* spp., *Lolium* spp., and others. Pyroxsulam also provides control of key broadleaves weeds in cereals (except barley and oats) including *Amaranthus* spp., *Anthemis arvensis*, *Brassica* spp., *Capsella bursa-pastoris*, *Galeopsis tetrahit*, *Galium aparine*, *Geranium* spp., *Helianthus annuus*, *Matricaria* spp., *Myosotis arvensis*, *Polygonum persicaria*, *Raphanus raphanistrum*, *Senecio vulgaris*, *Stellaria media*, *Veronica* spp., *Vicia* spp., *Viola tricolor* and others. Optimum weed control

¹ univ. dipl. inž. agr., Poslovalnica Ljubljana, Tržaška 132, SI-1000 Ljubljana

² dipl. inž. agr., prav tam

³ univ. dipl. inž. agr., prav tam

⁴ univ. dipl. inž. agr., prav tam

occurs when grass weeds are in the 1-5 leaf stage, to one tiller growth stage (annual grass weeds). Pallas® 75 WG is recommend in rate 125-250 g/ha, together with additional adjuvant (NU-FILM-17) to improve weeds control. The use rate of active ingredient pyroxsulam is very low, only 9-18,75 g/ha depending upon target weed species. Pallas® 75 WG is a herbicide with a favorable environmental and toxicological profile.

Key words: herbicide, pyroxsulam, weeds, wheat, rye, triticale

1 UVOD

Pleveli lahko v žitih povzročijo veliko ekonomsko škodo, saj povečajo stroške žetve, znižajo kvaliteto zrnja in močno zmanjšajo količino pridelka, kar je posledica tekmovanja za svetlobo, hranila in vlogo. Škodo povzročajo tako ozkolistni kot širokolistni pleveli in pridelovalec je velikokrat v situaciji, ko mora zatirati neštete ozkolistne in širokolistne plevle na eni sami parceli. Ena izmed najbolj konkurenčnih ozkolistnih plevelov sta srakoperec ali pahovka (*Apera spica-venti*), ki lahko pri močni zapleveljenosti zmanjšata pridelek tudi za 20-30 % in gluhi oves (*Avena fatua*), kjer že ena sama rastlina na m² posevka pomeni kar 1 % izgube pridelka. Veliko škodo lahko naredijo tudi širokolistni pleveli. Med njimi izstopa plezajoča lakota ali smolenec (*Galium aparine*), kjer ena sama rastlina na m² posevka pomeni kar 3-krat večjo izgubo pridelka kot pri gluhem ovsu (*Avena* spp.).

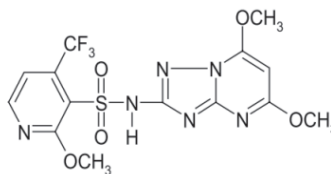
2 PALLAS 75 WG

460

PALLAS 75 WG je nov sistemični herbicid, ki ga je razvilo podjetje DOW AgroSciences, za zatiranje ozkolistnih in širokolistnih plevelov v žitih po vzniku (post-emergence). Je popolnoma nov sistemični herbicid za uporabo po vzniku, ki vsebuje novo učinkovino *pyroxsulam* (75 g/kg) in je v lahko odmerjajoči formulaciji močljivih zrn (WG). Uporablja se na pšenici (ne durum pšenici), rži in tritikali. Ne priporoča se uporaba na ječmenu in ovsu. PALLAS 75 WG ima svojo herbicidno delovanje najbolj izraženo preko listne površine, delno pa ima tudi rezidualno delovanje preko tal, tako da učinkuje tudi na novo vznikle plevle.

2.1 Fizikalno kemične lastnosti

- kemična skupina: triazolopyrimidin sulfonamidi
- šifra: DE-742
- molekulska formula: C₁₄H₁₃F₃N₆O₅S
- molekulska teža: 434,354 amu
- kemično ime (IUPAC): N-(5,7- dimethoxy [1,2,4] triazolo [1,5-a] pyrimidin-2-y)-2-methoxy-4- (trifluoromethyl) pyridine-3-sulfonamid
- ISO ime: piroksulam
- vsebnost: 75 g/kg piroksulam + 75 g/kg cloquintocet-mexyl
- temperatura tališča: 208 °C
- topnost v vodi: 0,0626 g/liter (20 °C)
- formulacija: vodotopna zrnca (WG)
- kompatibilnost: z večino sredstev za varstvo rastlin in foliarnimi gnojili



2.2 Toksikološki profil - piroksulam

- akutna oralna (podgana): LD₅₀ > 2000 mg/kg

- akutna dermalna (podgana):	LD ₅₀ > 2000 mg/kg
- akutna inhalacijska (podgana):	LC ₅₀ > 5.1 mg/liter
- iritacija kože (kunec):	ni iritanten
- iritacija oči (kunec):	ni iritanten
- mutagenost:	ni mutagen
- teratogenost:	ni teratogen
- karcinogenost:	ni karcinogen
- neurotoksičnost:	ni neurotoksičen
- reprodukativna toksičnost:	ne predstavlja nevarnosti za reprodukcijo
- razpolovna doba v tleh:	13 dni

2.3 Mehanizem delovanja

Piroksulam inhibira rastlinski encim acetolaktat sintazo (ALS), ki je bistven za sintezo razvejanih verig aminokislin valina, levcina in izolevcina. Inhibicija tvorbe aminokislin posledično inhibira delitev celic in povzroči propad občutljivih plevelov. Piroksulam je sistemičen, floesko in ksilemsko mobilni herbicid, ki se absorbira preko listov, stebela in korenin. Za optimalno učinkovitost so potrebni že zelo nizki odmerki od 9 - 8.75 g učinkovine/ha (120-250 g/ha pripravka) Aktivna učinkovina piroksulam izjemno hitro prodira v rastlino in je dež že eno uro po aplikaciji ne more več izprati.

2.3.1 Simptomi po aplikaciji

461

Po aplikaciji se pojavijo na plevelnih rastlinah kloroze, ki jim sledijo nekroze in propad plevelnih rastlin. Takoj po aplikaciji nastopi inhibicija rasti plevelov, v nekaj dneh se pojavi rdečenje žil in po 7-14 dneh nastopi nekroza apikalnega meristema in plevelne rastline propadejo v roku 2-4 tednov, odvisno od vremenskih razmer (temperatura in vlaga). Manjši pleveli propadejo hitreje, v primeru suše in nizkih temperatur pa je seveda proces odmrtnja plevelnih rastlin daljši.

3 SPEKTER DELOVANJA NA PLEVELE

PALLAS 75 WG odlično zatira vse pomembne ozkolistne in širokolistne plevelce, kar vodi k povečanju pridelka in zmanjšanju semen plevelov.

PALLAS 75 WG odlično zatira ozkolistne plevelce kot so srakoprec (*Apera spica-venti*), gluhi oves (*Avena fatua*), stoklase (*Bromus*) in druge, kar poveča pridelek in dobiček pridelovalca.

*Občutljivi pleveli: *Alopecurus myosuroides*, *Apera spica-venti*, *Avena fatua*, *Avena ludoviciana*, *Avena sterilis*, *Avena sativa*, *Bromus diandrus*, *Bromus japonicus*, *Bromus sterilis*, *Bromus rigidum*, *Phalaris paradoxa*, *Phalaris canariensis*, *Setaria viridis*, *P. semiverticillatus*.

**Zmerno občutljivi pleveli: *Agropyron repens*, *Echinochloa crus-galli*, *Hordeum* spp., *Lolium persicum*, *Lolium rigidum*, *Lolium multiflorum*, *Lolium perene*, *Lolium temulentum*, *Panicum milaceum*, *Panicum capillare*, *Bromus tectorum*, *Phalaris brachystachys*, *Phalaris minor*.

PALLAS 75 WG odlično zatira tudi številne širokolistne plevelce.

*Občutljivi pleveli: *Amaranthus retroflexus*, *Bifora radians*, *Brassica* spp., *Capsella bursa-pastoris*, *Daucus carota*, *Galeopsis tetrahit*, *Galium aparine*, *Geranium* spp., *Lamium amplexicaule*, *Lithospermum arvense*, *Malva* spp., *Matricaria* spp., *Poligonum persicaria*,

Raphanus raphanistrum, *Senecio vulgaris*, *Sinapsis arvensis*, *Sisymbrium* spp., *Stellaria media*, *Thlapsi arvense*, *Trifolium* spp., *Veronica hederaefolia*, *Veronica persica*, *Vicia* spp., *Viola arvensis*.

**Zmerno občutljivi pleveli: *Arctotheca calendula*, *Centaurea cyanus*, *Cerastium arvense*, *Chenopodium album*, *Chrysanthemum segetum*, *Cirsium arvense*, *Consolida orientalis*, *Kochia scoparia*, *Lamium purpureum*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*, *Salsola kali*, *Silybum marianum*.

*Občutljivi pleveli: učinkovitost 85-100 %

**Zmerno občutljivi pleveli: učinkovitost 60-85 %

4 ČAS UPORABE

PALLAS 75 WG naj bo apliciran v fenološki fazi žit, ko imajo 4 razvite liste do razvojnega stadija drugega kolena, to je stadij BBCH 14-32. Za optimalno delovanje priporočamo uporabo v naslednjih fenoloških fazah plevela: travni pleveli BBCH 14-24 (1 list do 4 stranski poganjki) in širokolistni pleveli BBCH 12-18 (2 - 8 razvitih listov). Za dobro učinkovitost naj se PALLAS 75 WG uporabi v temperaturnem območju med 5 in 25° C. Pleveli naj bodo v času aplikacije s herbicidom PALLAS 75 WG v fazi aktivne rasti. Uporaba se zmeraj priporoča skupaj s priloženim močilom.

5 UPORABA V PŠENICI, RŽI IN TRITIKALI

462

PALLAS 75 WG uporabljamo na ozimni in jari pšenici, tritikali ter rži v različnih odmerkih glede na zapleveljenost posevka:

- 120 g/ha za zatiranje navadne zvezdice (*Stellaria media*) in navadnega plešča (*Capsella bursa-pastoris*);

- 160 g/ha za zatiranje jetičnikov (*Veronica* spp.);

- 200 g/ha za zatiranje navadnega srakoperca (*Apera-spica venti*), vijolic (*Viola* spp.) in ovska (*Avena* spp.) in

- 250 g/ha za zatiranje njivskega lisičjega repa (*Alopecurus myosuroides*) v razvojni fazi BBCH 21-31.

V primeru zapleveljenosti z večletnimi trdovratnimi pleveli, kot sta npr. njivski slak (*Convolvulus arvensis*) in njivski osat (*Cirsium arvense*), se priporoča dodajanje herbicida MUSTANG 306 SE v odmerku 0,5-0,6 L/ha. Priporočena poraba vode pri aplikaciji je 100-300 L/ha.

6 ANTIREZISTENČNA STRATEGIJA PROTI ODPORNOSTI PLEVELOV

PALLAS 75 WG lahko uporabimo le enkrat v sezoni, v priporočenem odmerku, ki je naveden v navodilu za uporabo. Mešanje z drugimi herbicidi iz skupine *ALS-inhibitorjev je dovoljeno le za razširitev delovanja na širokolistne pleveli, predvsem večletne, kot sta njivski slak in osat. Pred ali po aplikaciji s herbicidom PALLAS 75 WG ne smemo za zatiranje ozkolistnih travnatih plevelov uporabljati herbicidov iz skupine ALS-inhibitorjev. V primeru pojava rezistence določenih plevelov, se ne priporoča mešanje s herbicidi iz skupine ALS-inhibitorjev.

7 KOMPATIBILNOST

PALLAS 75 WG je kompatibilen s herbicidi, fungicidi, insecticidi in s foliarnimi gnojili na osnovi dušika in mikroelementov. Lahko se meša z Mustang-om zaradi razširitve delovanja na določene plevelce (npr. *Papaver rhoeas*, *Convolvulus arvensis*). Ne priporoča se mešati s sredstvi na osnovi a.s. dikamba, ker zmanjša učinkovitost na ozkolistne plevelce in prav tako se ne priporoča kombinirati z ravnimi regulatorji.

8 REZULTATI BIOTIČNIH PREIZKUŠANJ V LETU 2012

8.1 Slovenija

Izvajalec: IHP Žalec

Lokacija: Ritmerk pri Ptuj

Sorta pšenice: Kerubino

Velikost parcele: 25 m²

Število ponovitev: 4

Datum tretiranja: 20. marec; datum ocene: 30. marec, 5. april, 19. april in 27. junij

Rezultati vizualne ocene poskusa z dne 27. junij 2012

Preglednica 1: Rezultati biotičnega preizkušanja v pšenici v letu 2012

poročilo biološkega preizkušanja 2012, št. H₂ 04/2012-1, GF-1274 PALLAS 75 WG (H002/12) + Mustang 306 SE
Vizualna ocena poskusa, 27. junij

Pleve št.	Latinsko ime plevelne rastline	%	Vizualna ocena herbicidne učinkovitosti in fitotoksičnosti tevilka obravnavanja													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	<i>Apera spica-venti</i>	47 %	U	91	100	100	90	95	97	52	54	70	/	/	/	92
2	<i>Lamium purpureum</i>	10 %	N	96	100	99	87	94	91	72	97	98	/	/	/	92
3	<i>Galium aparine</i>	22 %	T	80	94	100	86	88	88	98	92	90	/	/	/	99
4	<i>Stellaria media</i>	15 %	R	99	100	100	97	99	99	97	98	100	/	/	/	100
			E													
	Ostali pleveli skupaj	6 %	A													
			T.													
	Ocena fitotoksičnosti (%)		/	0	0	0	0	0	0	0	0	0	/	/	/	0

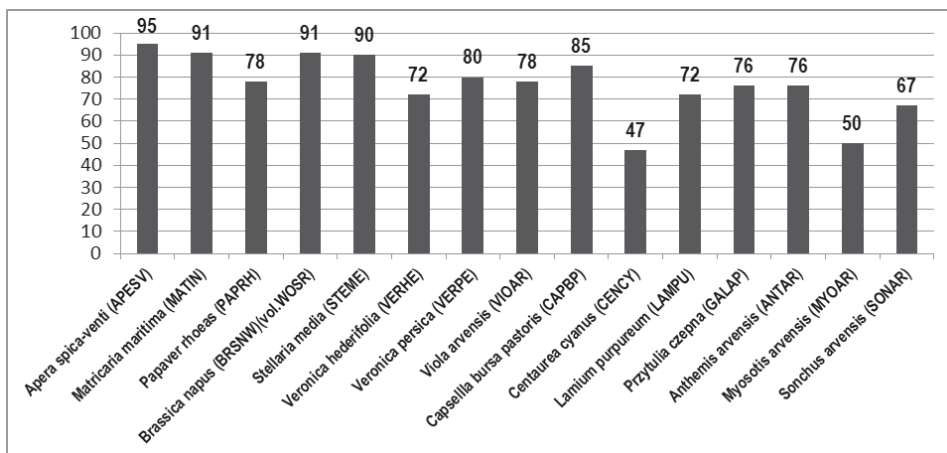
Ocena fitotoksičnosti (%): od 0 do 100; 0 - nič fitotoksičnosti; 100 - popolnoma uničene rastline zaradi fitotoksičnosti

Preglednica 2: Legenda uporabljenih herbicidov po variantah

Obravnavanje:	Sredstvo	Odmerek na hektar
1	KONTROLA	/
2	PALLAS 75 WG	250 g
3	PALLAS 75 WG + NF17	250g + 100 ml
4	PALLAS 75 WG+močilo	250g + 200 ml
5	PALLAS 75 WG	110 g
6	PALLAS 75 WG+NF17	110 g + 100 ml
7	PALLAS 75 WG+močilo	110 g + 200 ml
9	Dicamba, Tritosulfuron, surfactant	200 g + 250 ml
10	Amidosulfuron, Iodosulfuron	150 ml
14	PALLAS 75 WG + MUSTANG 306	125 g +600 ml

8.2. Poljska: učinkovitost pri znižanih odmerkih Pallas-a 75 WG

Povprečje rezultatov biotičnih preizkušanj: Poljska 2007-2011



Slika 1: Visoka učinkovitost Pallas-a 75 WG pri 1/3 odmerku 80 g/ha z dodanim močilom

464 9 SKLEP

PALLAS 75 WG je novi herbicid na osnovi aktivne snovi piroksulam za zatiranje enoletnih ozkolistnih in enoletnih širokolistnih plevelov v pšenici, rži in tritikali. Ima odlično sistemsko delovanje z vnosom preko listov plevelnih rastlin in krajše rezidualno delovanje preko tal na novo vznikle plevele. Zagotavlja odlično selektivnost na posevkih žit (razen ovsu in ječmenu) in je zelo fleksibilen glede temperature in časa uporabe (selektivnost vse do 2. kolenca žit). Ima zelo hiter sprejem v plevelno rastlino v roku 1 ure in je varen za uporabnika in okolje.

10 LITERATURA

- Dow Agrosciences, 2007. DE-742. Piroksulam Technical Bulletin
- Dow Agrosciences, 200. Piroksulam: A new postemergence herbicide for wheat
- Dow Agrosciences: Efficacy – Trials results Poland 2007-2012
- IHP Žalec, 2012. Poročilo o biotičnem preizkušanju pripravka PALLAS 75 WG

PROIZVOD, REŠITEV, USPEH - KONCEPT IN REZULTATI BAYERJEVIH POSKUSOV NA KORUZI IN PŠENICI

Alojz SREŠ¹

Bayer d.o.o., Bayer CropScience, Ljubljana

IZVLEČEK

Ustrezno varstvo rastlin pred pleveli, boleznimi in škodljivci je le eden, a zelo pomemben agrotehnični ukrep za doseganje visokih in kakovostnih pridelkov. Z uporabo najprimernejših pripravkov za varstvo rastlin omogočimo doseganje genetskega potenciala posamezne sorte ali hibrida, z napačno izbiro pripravka za varstvo rastlin pa količino in kakovost pridelka močno zmanjšamo, stroške pridelave pa povečamo. V Sloveniji je odločitev o uporabi fitofarmaceutskih sredstev za varstvo rastlin prepuščena kmetovalcem, ki pa se za nakup največkrat odločajo na podlagi oglasnih sporočil, ne pa dejanskih sposobnosti posameznega pripravka. Da bi dokazali oziroma ovrgli določene trditve o varstvu rastlin smo v letu 2012 napravili poskus varstva koruze pred pleveli in poskus varstva pšenice pred boleznimi. V koruzi smo primerjali dva načina varstva pred pleveli: zatiranje plevela pred vznikom in po njem. Za zatiranje plevela po vzniku smo uporabili Laudis, ki vsebuje aktivno snov tembotrion iz skupine triketon herbicidov, varovalo in močilo. Pri poskusih na pšenici smo primerjali vpliv različnih programov varstva pred rastlinskimi boleznimi na količino in kakovost pridelka ter vsebnost mikotoksina deoksinvalenol.

Gljučne besede: pleveli, herbicid, tembotrion, fungicidi, mikotoksini

ABSTRACT

PRODUCT, SOLUTION, SUCCESS: CONCEPT AND RESULTS OF BAYER'S EXPERIMENTS ON CORN AND WHEAT

Proper crop protection against weeds, diseases and pests is only one, but a very important agricultural measure for achieving high yields and high quality. By applying the most appropriate products for crop protection, we make it possible to attain genetic potential of the respective variety or hybrid; however, wrong choice of a crop protection product results in considerably reduced yield and poorer quality of crops, whereas production costs are higher. In Slovenia, the decision as to which crop protection product to use is left to farmers, who make their decisions mostly based on advertisements and not on the actual features of such products. In order to prove or reject certain arguments relating to crop protection, we conducted in 2012 an experiment to protect corn against weeds and another one to protect wheat against diseases. We compared two methods of protecting corn against weeds: pre-emergence and post-emergence weed control. For post-emergence weed control we applied Laudis, which contains the active ingredient tembotrione from the triketone group, the safener and the wetting agent. In wheat experiments, we compared the impact of various programs applied to protect wheat against plant diseases on quantity and quality of the yield and mycotoxin deoxynivalenol content.

Key words: weeds, herbicide, tembotrione, fungicide, mycotoxin

¹ univ. dipl. inž. agr., Bravničarjeva 13, SI-1000 Ljubljana

1 UVOD

1.1 Koruza

Koruzo sejemo na več kot tretjini slovenskih njiv. Za doseganje visokih in kakovostnih pridelkov je med drugim potrebno tudi ustrezno in pravočasno zatiranje plevela, ki koruzi odvzema svetlobo, prostor, vodo, hranila... Plevel lahko zatiramo po setvi pred vznikom koruze (pre-em), kmalu po vzniku koruze (rani post) in po vzniku koruze in plevela (pozni post). Do sedaj je veljalo prepričanje, da ima zatiranje plevela po vzniku koruze in plevela (pozni post) velik negativen vpliv na pridelek. Vendar če zatremo majhen, komaj vznikli plevel, s herbicidom, ki vsebuje varovalo, lahko še zmeraj pričakujemo zelo visok pridelek koruze. To so dokazali tudi rezultati naših poskusov v letu 2012.

Svetovalci za varstvo rastlin se večkrat srečujemo z različnimi pritožbami na slabo delovanje herbicidov, po drugi strani pa spet s pritožbami zaradi pojava fitotoksičnosti na rastlinah. Zato moramo najprej vedeti, kakšne so sploh potrebe koruze za njeno normalno rast in razvoj. Navajam le nekaj osnovnih pogojev oz. zahtev, ki jih rabi koruza za normalno rast in razvoj in jih moramo upoštevati tudi pri varstvu koruze pred pleveli:

- temperatura tal ob setvi koruze mora biti na globini od 6 do 8 cm višja od 8 °C, drugače je čas do vznika koruze precej daljši,
- koruzo sejemo v tla, kjer je setvena plast obdelana do rahlo grudičaste strukture, posteljica, na katero pade seme, pa mora biti uležana,
- na težjih tleh sejemo koruzo na globino približno 4 cm, na lahkih tleh pa globlje, na globino od 6 do 8 cm; globina setve je zelo pomembna tudi zaradi uporabe in vpliva talnih herbicidov na posevek koruze,
- v posevku koruze, kjer tla vsebujejo manj kot 1 % organske snovi, talnih herbicidov ne uporabljamo,
- povprečne dnevne temperature za normalno rast in razvoj koruze morajo biti višje od 13,5 °C, pri temperaturah pod 12 °C herbicidov ne uporabljamo,
- herbicidov ne uporabljamo tik pred in ne takoj po močnejšem dežju,
- koruza rabi do razvojne faze 6. lista (BBCH 16) dnevno 2 litra vode/m² in od 3 do 4 kg dušika/ha.

Morebitne negativne posledice uporabe herbicidov ob neupoštevanju zgoraj navedenih pogojev ublažimo, če za zatiranje plevelov uporabimo herbicid z vgrajenim varovalom. Ko se odločamo za uporabo herbicida, moramo tudi vedeti, katere plevelne vrste se pojavljajo na naši njivi. Njivo pregledamo in se na podlagi zastopanosti plevelnih vrst ter njihovega praga škodljivosti odločimo za najustreznejši herbicid. Velik vpliv na odločitev o izbiri herbicida mora imeti njegova učinkovitost, vpliv na okolje in ekonomski izračun pridelovalca koruze.

1.2 Pšenica

Pšenica je druga najpomembnejša poljščina na slovenskih njivah. Večino pridelovalcev opravi vsaj varstvo pred pleveli, varstvo pred boleznimi pšenice pa niha od odličnega varstva do popolne neuporabe fungicidov. Kar se tiče izgub pridelka pšenice zaradi varstva povzroči močnejša zapleveljenost največje izgube pridelka, takoj za zapleveljenostjo pa so okužbe z glivičnimi boleznimi drugi najpomembnejši razlog za manjše pridelke. Izgube pridelka zaradi okužb z rjami in pepelovko smo uspeli že skoraj popolnoma odpraviti, v zadnjem času pa predstavlja največjo težavo okužba žit z različnimi vrstami fuzarioz klasa (*Fusarium* sp.). Pomembnejše vrste iz rodu *Fusarium*, ki okužujejo klasje so *Fusarium graminearum*,

Fusarium culmorum, *Fusarium poae*... (Döhl in Dänicke, 2011; Bryden, 2012;). Jakost okužbe pšenice s fuzariozami klasa je v največji meri odvisna od občutljivosti sorte, vremenskih razmer v času cvetenja, predposevka in načina obdelave tal. Na učinkovitost zatiranja fuzarioz klasa pa vpliva izbira ustreznega fungicida, optimalni čas škropljenja in izbira vrtnične ali pa dvojne ploske šobe, ki omogočata zadostno pokritost posameznega klasa s fungicidom. Za zatiranje omenjenih boleznih klasa žit je registriranih veliko pripravkov, vendar pa je zelo malo zadovoljivo učinkovitih. Učinkoviti so predvsem fungicidi na osnovi triazolnih aktivnih snovi, še najbolj pa Prostaro®, ki vsebuje aktivni snovi protiokonazol in tebukonal (Mesterhazy in sod., 2011).

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Koruza

V letu 2012 smo izvedli 10 herbicidnih poskusov v koruzi. Poskusi so bili opravljeni v glavnem v severovzhodnem delu Slovenije, kjer tudi pridelujemo največ koruze. Namen poskusov je bil ugotoviti razširjenost plevelnih vrst na posevkih koruze v SV delu Slovenije in primerjati vpliv zatiranja plevelov na količino zrnja koruze ob uporabi standardnega herbicida na osnovi 3. aktivnih snovi v ranem postu (BBCH 12-13) z vplivom na količino pridelka zrnja koruze ob uporabi herbicida Laudis® (pozni post – BBCH 15), ki poleg aktivne snovi vsebuje tudi varovalo. Na vsaki lokaciji smo njivo razdelili na dva dela in oba pripravka uporabili na enako veliki površini. Pred uporabo pripravka Laudisa® (pozni post) smo na vsaki njivi popisali plevela. Popis plevelov v posevku koruze smo opravili na desetih lokacijah (Dol pri Ljubljani, Podova, Požeg, Videm, Stražgonjca, Moškanjci, Kapca, Gančani, Celje, Mirna peč), pridelek zrnja pa smo tehtali le na 5 lokacijah (Stražgonjca, Podova, Požeg, Kapca, Mirna peč). Razloga, da smo tehtanje pridelka zrnja koruze opravili le na petih lokacijah, sta bila prevelik negativni vpliv suše na pridelek koruze v SV Sloveniji (3 lokacije) in uporaba koruze za silažo iz cele rastline (2 lokaciji). Tehtanje pridelka zrnja koruze smo opravili z mobilno povozno tehtnico, svež pridelek koruze pa preračunali na pridelek s 14 % vlago.

2.2 Pšenica

V naših poskusih smo primerjali učinkovitost treh pripravkov na zmanjšanje onesnaženosti pšeničnega zrnja z mikotoksinom DON in vpliv različnih programov varstva pšenice pred boleznimi na količino pridelka. Za ugotovitev vpliva škropljenih programov za varstvo pšenice pred boleznimi na količino pridelka smo izvedli dva poskusa v letu 2012; enega v Gančanih na lahkih peščenih tleh in drugega v Vodichah na ilovnatih tleh. Primerjali smo tri škroplilne programe:

- Škroplilni program podjetja Bayer, kjer za varstvo boleznih listja in bili uporabljamo strobilurinski pripravek Sphere® 535 SC (trifloksistrobin + ciprokonazol), za varstvo klasov pa triazolni pripravek Prostaro® (protiokonazol + tebukonal);
- Škroplilni program 1, kjer za varstvo listja in bili uporabljamo strobilurinski pripravek na osnovi aktivnih snovi azoksistrobin in klorotalonil, za varstvo klasov pa azoksistrobin in ciprokonazol;
- Škroplilni program 2, kjer za varstvo boleznih listja in bili uporabljamo pripravek na osnovi aktivnih snovi epoksikonazol in fenpropimorf, za varstvo klasov pa triazolni pripravek na osnovi aktivne snovi metkonazol.

V poskusih ugotavljanja vpliva uporabe različnih škropljenih programov na količino pridelka smo varstvo pred boleznimi listja in bili opravili v razvojni fazi med drugim in tretjim kolencem (BBCH 32–33), varstvo pred boleznimi klasov pa od klasitve do začetka cvetenja (BBCH 59–61). Žetev smo opravili s klasičnimi kombajni za žetev žit, tehtanje pa z mobilno povozno tehtnico. Pridelek smo preračunali na pridelek/ha s 14 % vlago. Poskuse vpliva varstva

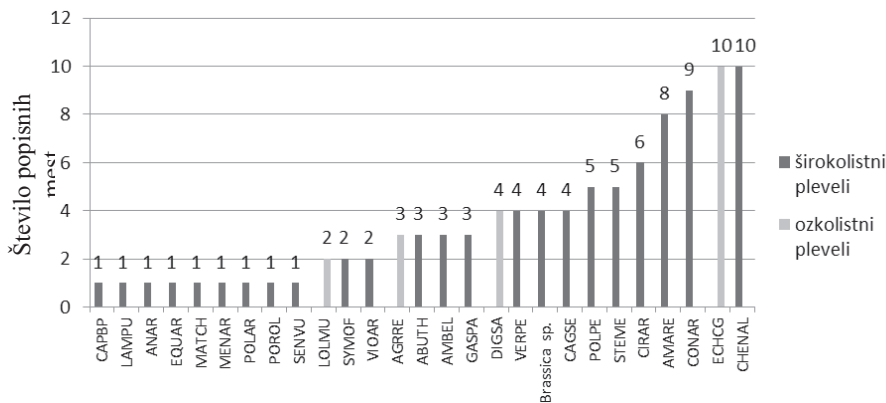
pšenice na onesnaženost zrnja z mikotoksinom deoksinivalenol (DON) izvajamo že štiri leta, vendar zaradi lažje primerjave med učinkovitostjo fungicidov navajam samo rezultate zadnjih dveh let. Poskuse za ugotavljanje učinkovitosti pripravkov na zmanjšanje onesnaženosti pšeničnega zrnja z DON-om smo opravili na različnih krajih Slovenije. Primerjali smo učinkovitost pripravkov na osnovi aktivnih snovi protiokonazola in tebukonazola (Prosaro®), metkonazola (triazol) ter azoksistrobina in ciprokonazola (strobilurin + triazol). Škropljenje smo opravili od klasenja do začetka cvetenja (BBCH 59–61). Vzorce pšeničnih klasov s poskusnih njiv (300 klasov) smo nabrali diagonalno po njivi ob vzvratni hoji tik pred žetvijo. To je najustreznejši čas in način, da nepristransko ugotovimo zastopanost različnih vrst iz rodu *Fusarium* in vsebnost DON-a v pridelanem zrnju pšenice. DON smo določili po metodi ELISA v francoskem laboratoriju PROMO-VERT.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Koruza

Zapleveljenost slovenskih koruznih njiv je zelo različna. Odvisna je predvsem od dosedanjega načina zatiranja plevelov, intenzivnosti pridelave, vrste tal, klimatskih razmer, poplavnih območij... Na naših desetih popisnih njivah smo ugotovili, da sta bili na vseh desetih poskusnih poljih zastopani navadna kostreba (*Echinochloa crus-galli*) in bela metlika (*Chenopodium album*), na večini njiv smo našli še njivski slak (*Convolvulus arvensis*), srhkodlakavi ščir (*Amaranthus retroflexus*) in njivski osat (*Cirsium arvense*) (slika 1).

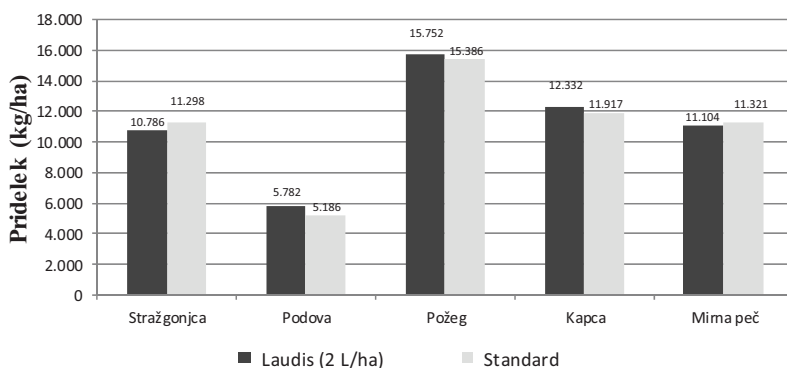
468



Slika 1: Pogostnost pojavljanja plevelnih rastlin na 10 poskusnih koruznih njivah v SV delu Slovenije v letu 2012.

Ugotovimo lahko, da so na tem območju razširjeni tako semenski ozkolistni (krvava srakonja, navadna kostreba) kot semenski širokolistni pleveli (navadni plešec, škrlatno rdeča mrtva kopriva, njivska pasja kamilica, prava kamilica, ptičja dresen, navadni tolščak, navadni grint, njivska vijolica, navadna ambrozija, baržunasti oslez, drobnocvetni rogovilček, perzijski jetičnik, križnice, breskova dresen, navadna zvezdica, srhkodlakavi ščir, bela metlika). Od koreninskih ali trajnih ozkolistnih plevelov smo popisali plazečo pirnico, prav tako pa tudi širokolistne trajne plevela (njivsko preslico, navadni gabez, njivski in plotni slak ter osat). Pogoste plevelne rastline na tem območju, ki pa jih na naših poskusnih poljih nismo našli, so tudi plevelne vrste iz rodu proso (*Panicum* sp.), najdemo pa tudi divji sirek (*Sorghum halepense*) in kislice (*Rumex* sp.).

Popis plevela je še zlasti pomemben za odločitev o uporabi najustrežnejšega herbicida. Kot sem že navedel, smo se na naših poskusih odločili primerjati vpliv zatiranja plevelov na količino pridelka ob uporabi herbicida na osnovi treh aktivnih snovi v ranem postu (BBCH 12-13) z vplivom na količino pridelka koroze ob uporabi herbicida Laudis® (pozni post – BBCH 15). Dobili smo zanimive podatke, ki so nekoliko v nasprotju z dosedanja trditvijo o najustrežnejšem času zatiranja plevelov v koruzi. Do sedaj je veljalo pravilo, da je za doseganje najvišjih pridelkov potrebno plevel zatreti čim prej, kar pomeni z uporabo talnih herbicidov po setvi koroze pred vznikom koroze (pre-em) ali kmalu po vzniku koroze in plevela (rani post). Naši rezultati (slika 2) dokazujejo, da čas uporabe in izbira herbicida ni imela večjega vpliva na pridelek koroze.



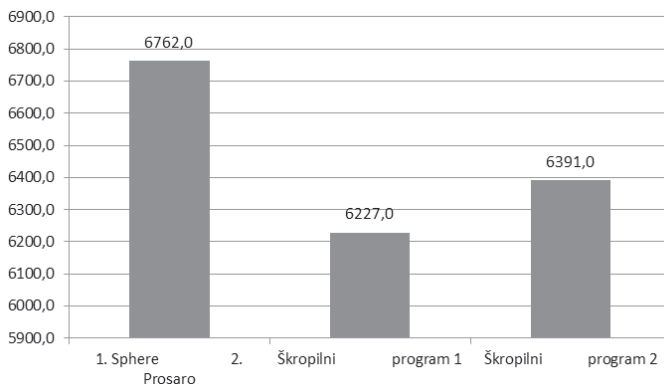
Slika 2: Primerjava pridelka koroze ob uporabi Laudisa v razvojni fazi petega lista koroze in standarda v razvojni fazi tretjega lista koroze v letu 2012.

Na podlagi rezultatov ne moremo podati uniformne trditve o najustrežnejšem času zatiranja plevelov v koruzi, čeprav smo v povprečju dosegli nekoliko večje pridelke ob uporabi pripravka Laudis® (11.151 kg/ha) kot ob uporabi standarda (11.022 kg/ha). Do pred kratkim herbicidi niso imeli vgrajenega varovala, zato je bil negativen vpliv na pridelek pri uporabi herbicida po vzniku koroze lahko zelo velik. Z vgradnjo varoval v herbicid pa se je ta negativen vpliv močno zmanjšal oziroma skoraj izničil. To dokazujejo tudi naši poskusi, kajti Laudis® ima vgrajeno varovalo izoksadifen, ki v koruzi razgradi aktivno snov, standard pa varovala nima vgrajenega. Drugi razlog za nekoliko slabši povprečni pridelek ob uporabi standarda s talnim delovanjem pa je možnost spiranja aktivne snovi. Če kmalu po škropljenju pade veliko dežja (nad 30 mm) lahko ob uporabi herbicida s talnim delovanjem pride do spiranja aktivne snovi v območje korenin in do določenega zaviranja rasti in razvoja mlade koroze. V letu 2012 pa se je zgodilo prav to. Pomen varovala na pridelek zrnja koroze smo primerjali tudi pri herbicidu Adengo® in standardu. Primerjava vpliva varovala je v tem primeru še boljše, kajti oba pripravka sta bila porabljena v razvojni fazi koroze treh listov, pridelek zrnja pa je bil večji ob uporabi herbicida Adengo®, ki prav tako vsebuje varovalo. Odločitev o uporabi herbicidov po vzniku koroze in plevela ne sme temeljiti le na razvojni fazi koroze, pač pa na razvojni fazi plevelov, časa vznika plevelov glede na razvojno fazo koroze, gostote plevelov, vrste tal, vremenskih razmer...

3.2 Pšenica

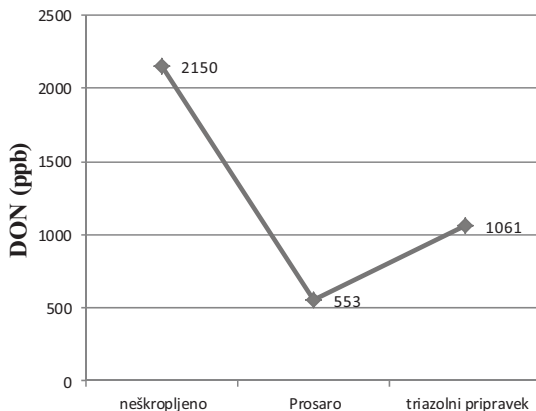
Količina in kakovost pridelka pšenice v Sloveniji je zelo različna in odvisna od mnogih dejavnikov: sorte, različne tehnologije pridelave, klimatskih razmer, ustreznosti tal za pridelavo pšenice, jakosti okužb z boleznimi, napada škodljivcev in zapleveljenosti... Z našimi poskusi, kjer smo ugotavljali vpliv varstva na onesnaženost zrna z mikotoksinom DON in na količino pridelka smo prišli do podobnih ugotovitev kot mnogi drugi avtorji.

Znano je, da je lahko pridelek pšenice ob ustreznem varstvu dvakrat večji, kot če varstva pšenice ne opravimo. Malo pa je znanega o tem, kako na količino pridelka vplivajo različni programi varstva pšenice. Na obeh naših poskusih smo dosegli največji pridelek pšenice s programom varstva podjetja Bayer. V Gančanih smo s programom varstva na osnovi strobilurinskih pripravkov dosegli nekoliko večji pridelek kot s programom, ki ne vsebuje strobilurinskih pripravkov. V Vodichah pa je bilo ravno obratno. Povprečje dveh poskusov pokaže, da največji pridelek dosežemo s programom podjetja Bayer, kjer za varstvo listja in bili pšenice uporabimo fungicid na osnovi aktivnih snovi trifloksistrobin in ciprokonazol, za varstvo klasov pa pripravek na osnovi aktivnih snovi protiokonazol in tebukonazol (slika 3).



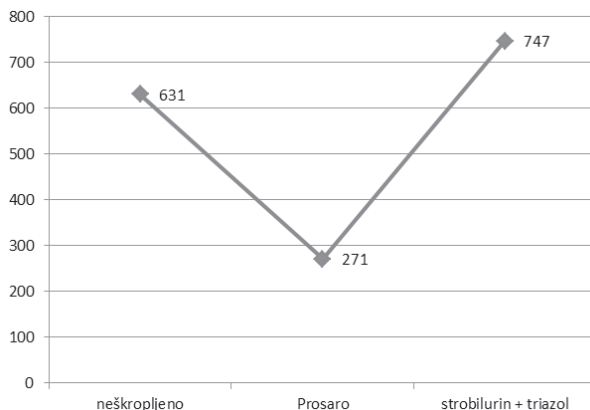
Slika 3: Primerjava povprečja pridelka z dveh poskusov na pšenici ob uporabi različnih programov za varstvo pšenice pred boleznimi.

Drugi največji povprečni pridelek smo dosegli s škropilnim programom 2, najmanjši pa s škropilnim programom 1. Rezultati so bili pričakovani, saj strobilurinski pripravki omogočajo odlično varstvo listja in bili žit, povečujejo zelenilni učinek in s tem fotosintezo, triazolni pripravki pa boljše varstvo klasa pred okužbami gliv iz rodu *Fusarium*. V programu varstva podjetja Bayer pa je za varstvo žit priporočena prav ta kombinacija pripravkov.



Slika 4: Primerjava povprečne onesaženosti zrnja pšenice z mikotoksinom DON na štirih poskusnih lokacijah.

471



Slika 5: Primerjava povprečne onesaženosti zrnja pšenice z mikotoksinom DON na petih poskusnih lokacijah.

Ker postajajo fuzarioze klasov v zadnjem času najpomembnejša bolezen pšenice in nekaterih drugih žit, smo na omenjenih dveh in še mnogih drugih poskusnih lokacijah opravili tudi analizo pšenice na onesaženost z mikotoksinom DON. Tudi na teh poskusih smo dobili pričakovane rezultate, saj smo pridelali pšenico z najmanj DON-a na delu njive, kjer smo uporabili pripravek Prosaro, manj učinkovit je bil enokomponentni triazolni pripravek (slika 4). Na delu njive, kjer smo uporabili pripravek na osnovi aktivnih snovi strobilurin + triazol pa je bila onesaženost pšenice z mikotoksinom DON celo večja kot na kontroli (slika 5). Iz dobljenih rezultatov vidimo pomen triazolnih pripravkov za varstvo žit pred boleznimi klasa, še posebno pa pred fuzariozami klasov. Triazolni pripravek Prosaro[®], ki vsebuje dve vrhunski aktivni snovi, deluje boljše kot pripravek na osnovi ene triazolne aktivne snovi. Prednost pripravka Prosaro[®] je v tem, da se aktivni snovi dopolnjujeta, saj aktivna snov tebukonazol deluje hitro, aktivna snov protiokonazol pa ima podaljšano delovanje. Zanimiva je ugotovitev, da je bilo zrnje pšenice bolj onesaženo na delu njive, kjer je bil uporabljen

pripravek na osnovi aktivnih snovi strobilurin + triazol, kot pa na kontroli. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Mesterhazy in sod. (2011). Po natančnejšem pregledu delovanja smo ugotovili, da omenjeni pripravek zatira večino najpomembnejših bolezni pšenice, ne pa fuzarioz klasa, ki izločajo mikotoksine. Ko zatre vse ostale bolezni omogoči prosto pot razvoju fuzarioz klasa in s tem povečanju onesnaženosti zrnja z mikotoksini.

4 SKLEPI

Ustrezno varstvo rastlin je pomemben dejavnik pri skrbi za povečanje količine in kakovosti pridelka. Vsi, ki se ukvarjamo z varstvom rastlin, bomo v bodoče morali prilagajati varstvo rastlin novim rastlinskim boleznim in upoštevati vse dejavnike, ki vplivajo na učinkovitost fitofarmaceutskih sredstev, tako pri zatiranju bolezni kot plevelov. Opraviti bomo morali še številne poskuse, na podlagi katerih bomo lahko kmetovalcem svetovali najustreznejše varstvo rastlin v danem trenutku. Z našimi poskusi smo že dokazali, da je Prosaro[®] najučinkovitejši pripravek za zatiranje fuzarioz klasa in da lahko z uporabo herbicida Laudis[®], ki poleg aktivne snovi vsebuje še varovalo, dosežemo večje pridelke koruze kot z uporabo herbicidov brez vgrajenega varovala, ki jih uporabimo pred ali kmalu po vzniku koruze. Posploševanje nasvetov, naštevanje vseh pripravkov, registriranih za zatiranje bolezni ali plevelov in svetovanje na komercialni osnovi ne omogoča najšodnejšega varstva rastlin, s tem pa tudi ne doseganja največjih in najkakovostnejših pridelkov.

5 LITERATURA

- Bryden W.L. 2012. Mycotoxin Contamination of the Feed Supply Chain: Implications for animal Productivity and Feed Security. *Animal Feed Science and Technology*, 173: 134-158.
- 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. Ljubljana, Kmečki glas: 314 str.
- Döll S., Dänicke S. 2011. The Fusarium Toxins Deoxynivalenol (DON) and Zearelenone (ZON) in Animal Feeding. *Preventive Veterinary Medicine*, 102: 135-142.
- Lešnik M. 2007. Tehnika in ekologija zatiranja plevelov. Ljubljana, Kmečki glas: 256 str.
- Mesterházy Á., Tóth B., Varga M., Bartók T., Szabó-Hevér Á., Farády L., Lehoczki-Krsjak S. 2011. Role of Fungicides, Application of Nozzle Types, and the Resistance Level of Wheat Varieties in the Control of *Fusarium* Head Blight and Deoxynivalenol. *Toxins*, 3: 1453-1483.

ADENGO® – NAJNOVEJŠI HERBICID ZA VARSTVO KORUZE

Istok MARIN¹

Bayer CropScience, Bayer d.o.o., Ljubljana

IZVLEČEK

Adengo® je nov herbicid z rezidualnim in foliarnim delovanjem s katerim zatiramo enoletne ozkolistne in enoletne širokolistne pleveli v posevkih koruze. Takoj po vzniku koruze je ta izpostavljena konkurenčnemu boju s pleveli za vodo, svetlobo in hranila. Brez pomoči pri zatiranju plevelov v začetni fazi razvoja koruze je pridelek ogrožen, kar pomeni ekonomski izpad za kmetovalca.

Ključne besede: Adengo®, herbicid, Izoksafutol, koruza, Tienkarbazon metil

ABSTRACT

ADENGO® - NEW HERBICIDE FOR MAIZE PROTECTION

Adengo® is a residual and foliar herbicide that combats annual grasses and broad leaved weeds in corn. Once they've broken through the soil, corn seedlings face fierce competition from weeds greedy for their water, light and nutrients. Without help they don't stand a chance, which can mean severe income losses for farmers.

Key words: Adengo®, corn/maize, herbicide, Isoxaflutole, Thien carbazone methyl

1 UVOD

Koruza, druga najpomembnejša poljščina v prehrani ljudi, izvira iz Mehike. Po Kolumbovem odkritju Amerike leta 1492 je bila med prvimi rastlinami pripeljana na Evropsko celino. V tem času je prišlo do velikega napredka pri žlahtnjenju, prav tako pa so se razvile številne bolezni in škodljivci koruze. Načinu pridelave in varstva koruze so sledili tudi pleveli in marsikateri plevel je postal odporen na nekatere herbicide. S to problematiko se je v svoji dolgi zgodovini srečevalo tudi podjetje Bayer, ki letos praznuje 150 let svojega delovanja. Prav ob tem jubileju smo dobili na slovensko tržišče herbicid za zatiranje plevelov v koruzi, kot ga še ni bilo – Adengo®.

2 MATERIAL IN METODE

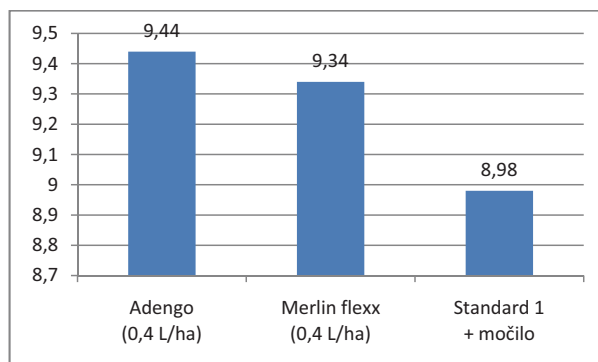
Pri uporabi herbicidov moramo biti pozorni predvsem na večkratno ponavljajočo uporabo enakega pripravka, kajti v tem primeru pride do odpornosti ali prerazmnožitve plevelov, ki jih uporabljeni pripravek ne zatira več. Nekaj podobnega se dogaja tudi na slovenskih koruznih poljih. Adengo® je najnovejši vrhunski herbicid za zatiranje enoletnih ozkolistnih in širokolistnih plevelov v koruzi, poleg tega ima zelo dobro stransko delovanje na trajne ozkolistne in širokolistne pleveli. Enoletne pleveli zatira 95-100 % ter večletne pleveli 80 % učinkovito, kar pomeni, da tudi tiste, ki jih ne uniči popolnoma, močno zavira v razvoju.

¹ Bravničarjeva 13, SI-1000 Ljubljana

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Uspeh pripravka Adengo® pri zatiranju plevelov zagotavljata dve aktivni snovi, izoksaflutol in tienkarbazon metil. V plevelnih rastlinah vplivata na različne presnovne procese in jih prav zaradi tega zatirata na različne načine. Aktivna snov, izoksaflutol iz skupine izoksazolov, zavira delovanje encima HPPD, ki sintetizira karotenoide, ta isti encim je pomemben člen pri biosintezi plastokinona in tokoferola v kloroplastih. Plastokinon je prenašalec protonov in elektronov v tilakoidni membrani. Posledice inhibicije encima HPPD so nefunkcionalna klorofilna zrnca ter nesinteza karotenoidov, kar je vidno kot močno razbarvanje oz. beljenje plevelnih rastlin. Izoksaflutol vstopa v rastlinska tkiva preko koreninskih laskov, hipokotila ter listov, premeščanje po vstopu v rastline poteka akropetalno in bazipetalno. Popolnoma nova aktivna snov, tienkarbazon metil iz družine sulfonilsečninskih herbicidov, sodi v novo skupino sulfonilamino karbonil triazolinonov, ki preprečuje nastanek nekaterih nujno potrebnih aminokislin za rast in razvoj rastlin. Tienkarbazon metil zavira delovanje encima ALS (acetolaktat sintetaze), ki je pomemben za sintezo aminokislin z dolgimi stranskimi verigami. Kmalu po vstopu v plevele povzroči ustavitev delitve celic v meristemu, kar ima za posledico zastoj v razvoju. Tienkarbazon metil vstopa v rastlinska tkiva preko koreninskih laskov ter listov, premeščanje po vstopu v rastline poteka akropetalno in bazipetalno. Obe aktivni snovi vstopata v rastlino skozi njene nadzemne in podzemne dele, kar pomeni, da ima Adengo® tako rezidualno kot tudi foliarno delovanje. Rezultat medsebojnega delovanja teh dveh aktivnih snovi je velika učinkovitost zatiranja plevelov.

474



Slika 1: Pridelek koruze ob uporabi različnih herbicidov v razvojni fazi 2 listov koruze (vir: Malidža G., Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi sad, 2011, 45. svetovanje agronoma Srbije, Zlatibor)

In zakaj po uporabi pripravka Adengo® plevel propade, kuruza pa nemoteno raste naprej? Ker Adengo® vsebuje varovalo ciprosulfamid. Varovalo ciprosulfamid iz skupine acilsulfonamidov, je sestavni del herbicida Adengo® in omogoča hiter metabolni razkroj obeh aktivnih snovi, ki po aplikaciji prehajata v kuruza, kar pozitivno vpliva na nemoteno rast in razvoj koruze. Ciprosulfamid je edinstven po tem, da ima poleg foliarnega tudi rezidualno delovanje, kar ni bilo značilno za dosedanja varovala. Učinek varovala smo primerjali tudi na poskusih vpliva herbicida z ali brez varovala na pridelek koruze. Rezultati s poskusov iz Srbije (slika 1) in Madžarske, kjer imajo Adengo® v poskusih že več let, potrjujejo učinkovitost varovala. Primerjali so vpliv herbicidov, ki so registrirani tudi pri nas, na pridelek koruze. Adengo® in Merlin® flexx vsebujeta varovalo, standard pa ne. Vsi trije pripravki so bili uporabljeni v fazi od dveh do treh listov koruze. Na površinah, kjer so

plevele zatirali s pripravkom Adengo, so dosegli od 3 do 5 % večji pridelek koruze kot na površinah, kjer je bil uporabljen herbicid brez varovala.

Poleg odličnega zatiranja plevelov v koruzi v normalnih razmerah in doseganja višjih pridelkov, Adengo® odlikuje tudi učinkovitost ob zmanjšani talni vlažnosti. Za aktiviranje talnega delovanja pripravka Adengo® zadostuje zgolj od 8 do 10 mm padavin (ostali talni herbicidi potrebujejo od 15 do 20 mm padavin), aktivne snovi iz pripravka Adengo® med vsemi najdlje počakajo v tleh na padavine (tudi dva tedna) in se nato aktivirajo ter zatirajo plevela.

Zelo primeren je tudi za zatiranje plevelov v koruzi po odkosu ljuljke, in kjer smo slabo zaorali (ali pa samo zrvtavkali) kak prezimni dosevek. Adengo® zatre že vznikle slabo zaorane plevela (ljuljka, križnice...) kot tudi plevela, ki vznikajo pozneje.

V primeru ustrezne vlažnosti tal je optimalen čas uporabe zelo dolg: od setve pa do tretjega lista koruze. Če je po setvi napovedano ekstremno sušno obdobje s škropljenjem počakamo do vznika plevelov (približno med drugim in tretjim listom koruze) in Adengo® uporabimo takrat. Tako bomo plevela zatrli prek listov, preostanek sredstva na tleh pa se bo aktiviral ob prvem dežju.

4 SKLEPI

Adengo, zaradi dveh aktivnih snovi, ki imata različen mehanizem delovanja, izjemno učinkovito zatira vse gospodarsko pomembne enoletne plevela. Ciprosulfamid v vlogi varovala, pospeši metabolni razkroj aktivnih snovi v koruzi, kar omogoča koruzi nemoteno rast.

INSEKTICIDNA MREŽA ZA ZATIRANJE ŠKODLJIVCEV V GOZDARSTVU IN SKLADIŠČIH

Damjan FINŠGAR¹

BASF Slovenija d.o.o., Ljubljana

IZVLEČEK

Nemško podjetje BASF je razvilo nov način zatiranja škodljivcev, ki se že uporablja v gozdarstvu in skladiščih kmetijskih rastlin. V družini proizvodov, imenovanih Complion®, je bila razvita posebna mreža za zatiranje lubadarjev. V umetna vlakna mreže je s posebnim postopkom vgrajena aktivna snov alfa-cipermetrin, ki je na slovenskem trgu znana v insekticidu Fastac. Aktivna snov prehaja iz notranjosti vlaken na površje, sorazmerno z izgubo le te na površju vlaken. Mreža vsebuje 100 mg aktivne snovi na m² mreže. Škodljivec mora ostati na mreži nekaj sekund. To je dovolj za učinkovito delovanje. V vlaknih je dovolj aktivne snovi za učinkovitost mreže vsaj 6 mesecev. Uporaba mreže na prostem nima negativnih stranskih učinkov na okolje. Storanet® je ime za enega od proizvodov iz družine Complion®, namenjenega za varovanje skladiščene hlodovine. Z mrežo pokriti hlodi ali tudi posamezen hold, so mehansko in kemično zaščiteni pred napadom lubadarjev. Smiselno je pokriti tudi z lubadarji že napadeno hlodovino. S tem preprečimo širjenje škodljivca na zdrav les.

476

Ključne besede: Complion®, Storanet®, alfa cipermetrin, umetna vlakna, okolje, lubadar

ABSTRACT

INSECTICIDAL FINE-MESHED NET FOR CONTROLLING FOREST AND STORED TIMBER PESTS

BASF is introducing a new range of products to support forest protection that adopts totally different approaches. Under the Complion® product family, BASF has developed a fine-meshed net aimed at combating bark beetles. Its polyester fibres contain a formulation consisting of alpha cypermethrin and a polymer binder system which allows the active ingredient to be discharged at the surface of the material in a controlled manner. The active ingredient has a concentration of 100 mg per m², which is sufficient to kill the beetles after contact of only a few seconds. At the same time, the application has no undesired side effects and has virtually no environmental impact. Storanet®, is one of products from family, use to protect stored timber. This light netting is stretched over individual trunks of woodpiles and prevents bark beetles from penetrating by creating a physical and chemical barrier. Moreover, tests have shown that the use of Storanet® over timber that has already been infested can prevent the beetles from spreading.

Key words: Complion®, Storanet®, net, alpha cypermethrin, polymer binder system, environmental impact, bark beetle

¹ univ. dipl. inž. agr., Dunajska cesta 111a, SI-1000 Ljubljana

1 UVOD

V slovenskih gozdovih se v zadnjem desetletju vrstijo nepredvideni dogodki. Predvsem so to naravne nesreče, snego- in vetrolomi in kot posledica tega prerazmnožitev škodljivcev, posebno lubadarjev. Menimo, da gre osnovni vzrok pripisati spremembi podnebja in v zvezi s tem različnim pojavom, ki spremljajo te spremembe. V zadnjih letih se je izredno povečala sečnja iglavcev, napadenih od lubadarjev.

Podroben opis problema, predvsem sanitarne sečnje, ko je potrebno v kratkem času pospraviti velike količine lesa, opisujejo številni strokovni članki, napisanih v zadnjih letih. Od lubadarjev napaden les se krajši čas skladišči na začasnih mestih, navadno kar v gozdovih, ob gozdnih poteh, pri tem pa ni zavarovan pred dodatnim napadom oziroma ni preprečeno širjenje škodljivca iz napadenega lesa. Priročna skladišča predstavljajo veliko nevarnost za širjenje lubadarjev na drevesa, ki rastejo v bližini takšnih skladišč!

2 KRATEK OPIS MOŽNOSTI ZATIRANJA LUBADARJEV Z INSEKTICIDNO MREŽO, GLEDE NA DEJSTVO, DA NISO DOVOLJENI KEMIČNI UKREPI

Insekticidna mreža je bila razvita v podjetju BASF SE z namenom varovanja ljudi pred prenašalci malarije. Svetovna zdravstvena organizacija je v ta namen odobrila njeno uporabo na ogroženih območjih. Zaradi zelo ugodnih toksikoloških in ekotoksikoloških lastnosti se zdaj uvajaja tudi za druga področja uporabe. Eno izmed teh predstavlja tudi uporaba v gozdarstvu.

477

Izdelek za varovanje posekanega lesa (hlodovine), sečnih ostankov in lesa v skladiščih ter žaganega lesa na žagah, se imenuje Storanet[®]. Storanet[®] pomeni edinstven način varovanja hlodovine, sečnih ostankov in žaganega lesa pred škodljivci lesa, posebno lubadarji in pomembno prispeva k preprečevanju njihovega širjenja/razmnoževanja. Z mrežo prekrit, že z lubadarji naseljen les (hlodovina), zaustavi njihovo širjenje, saj so mehansko ujeti pod njo, počasi sproščujoča insekticidna snov pa jih v veliki meri na koncu pokonča. Preprečevanje škode od podlubnikov je v sedanjih razmerah širjenja teh škodljivcev izredno pomembno. Prednost pri tem imajo načini, ki so okolju prijazni in v minimalnem obsegu ali pa sploh ne, posegajo v naravno okolje. Insekticidna mreža Storanet[®] je izdelek, ki združuje nekaj teh lastnosti: je dovolj zanesljiva in učinkovita, prijazna do uporabnika in ne pušča zaznavnih negativnih vplivov na okolje.

V primeru naravnih nesreč v gozdu, ki nas v zadnjih letih nenehno spremljajo v večjem ali manjšem obsegu, je možnost uporabe izdelka, kot je Storanet[®], v veliko pomoč pri zmanjševanju škode in lažjem načrtovanju sanacije po naravnih ujmah.

3 UPORABA IN LASTNOSTI MREŽE

Storanet[®] se uporablja kot insekticidna mreža z dolgotrajnim delovanjem za varstvo posekanih drevesnih debel (hlodovine), sečnih ostankov in žaganega lesa pred naletom škodljivih žuželk oz. pred izletavanjem škodljivih žuželk v primerih, ko so hlodi, sečni ostanki ali skladiščen les že napadeni.

V primerih, ko so žuželke že naseljene v deblih, mreža preprečuje, z insekticidnim in mehanskim delovanjem, izletanje odraslih osebkov in širjenje v okolico.

3.1 Predmet varstva

- a) posekana debla iglavcev in listavcev,
- b) skladiščena hlodovina iglavcev in listavcev,
- c) les, zložen v skladovnice.

Površina mreže 100 m² zadostuje za prekritje do 20 m³ skladovnice.

3.2 Način delovanja

- a) Preventivno z nameščanjem mreže pred letom škodljivih žuželk oziroma v času, ko je povečano tveganje za njihov nalet, s čimer se prepreči dostop do hlodovine oziroma skladovnic lesa.
- b) V primeru, da so škodljive žuželke v hlodovini že zastopane, preprečevanje izletavanja odraslih osebkov in širjenje napada.

3.3 Ciljni organizmi

podlubniki (*Scolytidae*), še posebno vrsti osmerozobi smrekov lubadar (*Ips typographus*) in šesterezobi smrekov lubadar (*Pityogenes chalcographus*).

3.4 Način uporabe

- a) ovijanje posameznih hlodov,
- b) prekrivanje zaloge hlodov in
- c) prekrivanje zaloge/skladovnic lesa.

Mreža Storanet[®] ima širino 8 m in dolžino 12,5 m. Pakirana je v plastično folijo. Na mestu uporabe se folija odstrani, mreža se odvijne in je takoj uporabna za nameščanje, prekrivanje. Mrežo je treba prijeti na vseh štirih vogalih, jo položiti na objekt prekrivanja in povleči vsak njen vogal v zeleno smer. To lahko naredi ena ali dve osebi. Ko je objekt prekrit, je potrebno obtežiti rob mreže k tlom s kamenjem, zemljo, ustreznimi deli lesa ali z drugimi pripomočki, ki zavarujejo mrežo pred vetrom. V primeru manjših skladovnic krajših hlodov je dovolj, da se pritrdi mrežo na obeh koncih kupa. Za večje kupe s prostornino okrog 20 m³, je poleg roba, potrebno mrežo obtežiti vsakih pet metrov z vejami ali drugim ustreznim materialom v prečni smeri.

3.5 Trajanje delovanja

Deluje do 24 tednov (6 mesecev); mrežo je mogoče ponovno uporabiti, pod pogojem, da je bila ustrezno skladiščena (spravljena v priloženo plastično vrečo in odložena v temnem prostoru).



Slika 1: Pred škodljivci zavarovana skladovnica hlodov z mrežo Storanel®.

3.6 Karakteristike mreže Storanel®

Material	100- nylon, umetna vlakna, polyester spletena v mrežo
gostota	47 okenc/cm ²
teža	63 g/m ² ± 10%
trdnost	> 450 kPa
aktivna snov	100 mg α -cipermetrin/m ²
barva	olivno zelena
zaznavanje aktivne snovi	na površju mreže neopazna, brez vonja
rok uporabe	24 tednov

KAZALO AVTORJEV / INDEX OF AUTHORS

AMBROŽIČ TURK Barbara	78
ARNAUT Pero	101
BAČIĆ Jasmina	369
BAJEC Domen	96, 120, 168, 205, 222, 235, 309, 401
BAVCON KRALJ Mojca	283
BAVEC Franci	434
BAVEC Martina	434
BENKO BELOGLAVEC Anita	46
BJELIŠ Mario	101
BOHINC Tanja	160, 250 , 286, 295, 313
BOLČIČ Jana	244
BRENCE Andreja	120
BRZIN Jože	132
BULJUBAŠIĆ Ivana	101
CARLEVARIS Branko	258, 283
CELAR Franci Aco	38
ČEBOKLI Peter	168
ČUK Jana	283
DEAK Suzana	101
DEMŠAR Tina	391
DERMASTIA Marina	78
DOLNIČAR Peter	138, 448
DREO Tanja	74, 125 , 132, 273
ERJAVEC Jana	132
FAJT Nikita	78
FINŠGAR Damjan	476

480

FREIER Bernd	6
GERIČ STARE Barbara	144 , 369, 373, 378, 397, 448
GRAHOVAC Nada	454
GRUNDER Jürg M.	1 , 239, 334, 339
GVOZDENAC Sanja	278
HAUPTMAN Tine	52 , 57
HOMMEL Bernd	6
HORVÁTH József	410
INĐIĆ Dušanka	278
IVANOVIĆ Ante	101
JAKOPIČ Jerneja	405, 434
JAKŠIĆ Snežana	454
JANČAR Matjaž	84
JURC Dušan	52, 57
KAZINCZI Gabriella	410
KAVALLIERATOS Nickolas G.	286
KEREŠI Tatjana	278
KNAPIČ Matej	11 , 16 , 22, 27, 216
KNAPIČ Vlasta	190
KOCJAN AČKO Darja	439
KOGOVSŠEK Polona	429
KORON Darinka	69, 405
KOS Andrej	459
KOS Katarina	38
KOZMUS Peter	33
KREITER Serge	286
KUBIK Špela	391
LAMOVSŠEK Janja	373

LAZIĆ Sanja	454
LAZNIK Žiga	151, 295, 320, 327, 422
LENARČIČ Rok	429
LESKOŠEK Gregor	439
LESKOVŠEK Lucija	120, 205, 222, 235, 309, 401
LESKOVŠEK Robert	178, 184, 416
LEŠNIK Mario	11, 16, 22, 27, 172, 228
LUTZ Matthias	239, 334, 339
MAJCEN Drago	459
MARIN Istok	473
MASTEN MILEK Tatjana	354, 366
MATKO Boštjan	114, 172, 210 , 228
MAVRIČ PLEŠKO Irena	78, 344, 384, 448
MEGLIČ Vladimir	448
MEHLE Nataša	78
MEŠL Miro	114, 172, 210, 228
MIKLAVC Jože	114 , 172, 210, 228
MIKLAVC Marjeta	172
MIKULIČ PETKOVŠEK Maja	69, 405 , 434
MODIČ Špela	244 , 266, 339, 359
MUNDA Alenka	397 , 405
NÁDASY Erzsébet	410
NAGLIČ Tina	125, 273
OGRIS Nikica	57, 62
PAJK Primož	258
PÁL-FÁM Ferenc	410
PARADŽIK Boris	459
PEREIRA Rui	101

PERSOLJA Jolanda	11, 16, 22, 27
PETERKA Matjaž	125, 273
PETERLIN Andreja	96, 120, 205, 222, 235, 309 , 401
PIRC Manca	74
PIŠKUR Barbara	57
POJE Tomaž	444
POPOVIČ Luka	101
POŽENEL Anka	283
PUŠNIK Mojca	228
RADIŠEK Sebastjan	11, 16, 22, 27, 295
RAK CIZEJ Magda	11, 16, 22, 27
RAVNIKAR Maja	125, 132, 273, 391, 429
RAZINGER Jaka	239 , 244, 266, 334 , 339 , 344, 348, 359
RODIČ Karmen	96, 120, 168 , 205 , 222, 235, 309, 401
ROT Mojca	89, 109 , 283
ROTTER Ana	391
RUPNIK Maja	391
RUTAR Rok	216
SABOTIČ Jerica	132
SCHMITZER Valentina	69, 405
SCHROERS Hans-Josef	239, 334, 339
SELJAK Gabrijel	89 , 109
SIMONČIČ Andrej	11, 16, 22, 27, 33, 178, 184, 416
SLATNAR Ana	434
SOLAR Anita	114
SREŠ Alojz	439, 465
STATHAKIS Theodoros	286
STEPIC Primož	459

STOJANOVIĆ Aleksandar	286
STRAJNAR Polona	378
STRASSEMEYER Jörn	6
ŠIMALA Mladen	354 , 366
ŠIRCA Saša	144, 369, 378
ŠKERBOT Iris	303
ŠKERLAVAJ Vojko	11, 16, 22, 27, 348
ŠKOF Mojca	244, 266, 339
ŠTAMPAR Franci	69, 405, 434
ŠTEFANČIČ Matej	168, 201
ŠTEFANČIČ Mateja	168, 201
ŠTRUKELJ Melita	344
ŠUNJKA Dragana	454
TAKÁCS András	410
TANASKOVIĆ Snežana	278
TOMANOVIĆ Željko	286
TRDAN Stanislav	114, 151, 160 , 250, 286 , 295, 303, 313, 320, 327, 422 , 439
TUŠEK ŽNIDARIČ Magda	273
UGRINOVIĆ Kristina	244, 266 , 339
UREK Gregor	11, 16, 22 , 27 , 138, 144, 239, 334, 339, 344, 369, 373, 378
VAJS Stanislav	172 , 228
VEBERIČ Robert	69, 405, 434
VIDRIH Matej	151, 295, 303, 439
VIRŠČEK MARN Mojca	344, 384
VODNIK Dominik	378
VUČAJNK Filip	295, 439
VUKOVIĆ Slavica	278, 454
WEBER Nika	405

ZEMLJIČ URBANČIČ Marjeta	11, 16, 22, 27, 244, 266, 339
ZIDARIČ Igor	138, 348
ZORNBACH Wolfgang	6
ŽERJAV Metka	46, 244, 266, 339, 359
ŽEŽLINA Ivan	258, 283
ŽIBRAT UROŠ	216
ŽVEPLAN Silvo	416

Sponzor

486



Bayer CropScience

Posvetovanje so podprli



487



PIONEER®
A DUPONT COMPANY

488



Ω Omega d.o.o.

Donatorji



za zdravo prihodnost