

POMEN OBVLADOVANJA VEKTORJEV V EPIDEMIOLOGIJI FITOPLAZEMSKIH BOLEZNI

Vlasta KNAPI¹

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

IZVLE EK

V obdobju 1998-2012 smo v Sloveniji zabeležili pomembne gospodarske škode zaradi fitoplazemskih bolezni 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 omogoajo žuželke, ki jih prenašalci, v glavnem škrtatki (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 uje tritrofi no razmerje med patogenom ter pogosto ve rastlinskimi gostitelji in prenašalci. V prispevku so podani nekateri vidiki pojave in obvladovanja fitoplazemskih bolezni 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 bolezni, 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 žuželk jih gostiteljev fitoplazem, obdobjem terenskih pregledov in laboratorijskega testiranja v okviru programov posebnega nadzora oz. inšpekcijskega spremljanja in skupno vrednostjo izplaanih 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 # - pri etek (prvi izbruh)	Vrednost odškodnin (€)**
Zlata trsna 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>Orientalis ishidae</i>)*	2002 (2005)	431.489
Navadna trsna rumenica (Bois noir, BN)	'Ca. Phytoplasma solani' (skupina: stolbur)	<i>Vitis</i> spp. <i>Urtica dioica</i> (tuf-tip-I) <i>Convolvulus</i> (tuf-tip-II)	<i>Hyalestes obsoletus</i> (<i>Reptalus panzeri</i>)*	2002 (1986)	-
Metli avost 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 koš i arjev (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 sistematično raziskava (ugotavljanje navzočnosti, meja razširjenosti) rastlinskih škodljivih organizmov, ki jo izvaja uradna nacionalna služba za varstvo rastlin večletno v skladu z mednarodnim standardom za fitosanitarne ukrepe ISPM 6, rezultati pa služijo opredelitvi ukrepov, določitvi statusa, itd.

**do odškodnine so upravičeni pridelovalci rastlin, ki se uničijo ali ne morejo pridelati 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 žuželke 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 metli avosti 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 obasno gospodarsko škodo navadna trsna rumenica po mlosti 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 različnim življenjskima krogoma teh dveh vrst fitoplazem prihaja v vinski trti do mešanih okužb, kar otežuje prepoznavanje bolezni in veča možnost za izmenjavo genetskega materiala med obema vrstama fitoplazem (Hren in sod., 2009).

V rod '*Candidatus Phytoplasma*' (Mollicutes; Achleplasmatales; Achleplasmataceae) je do sedaj uvrščenih 35 vrst, 8 med njimi še ni dovolj raziskanih, da bi jih zanesljivo opredelili kot ločene vrste. Prav 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

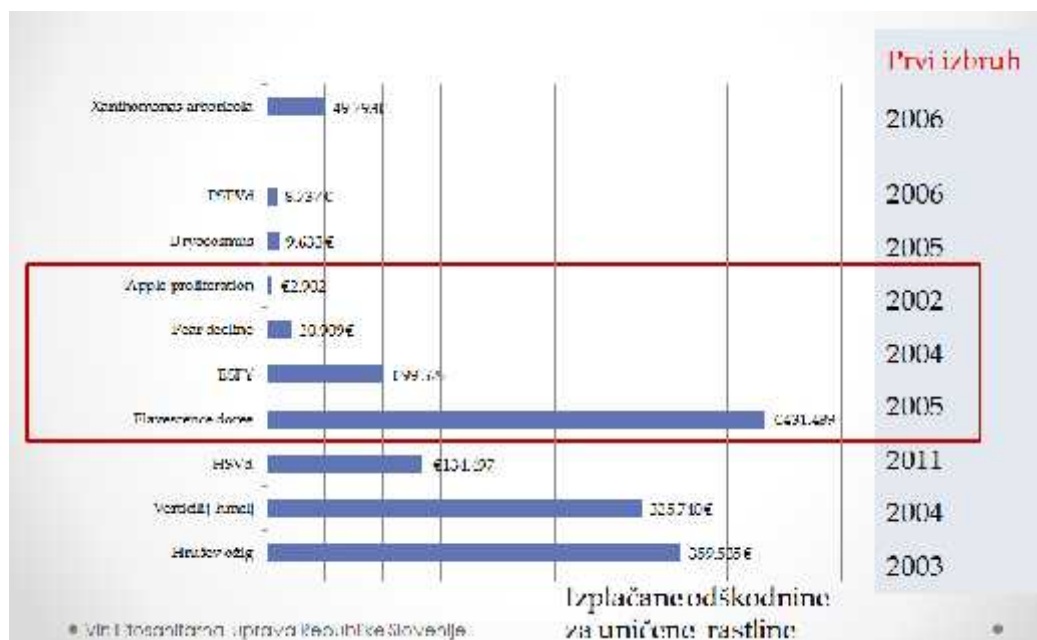
2 STANJE OKUŽENOSTI RASTLIN V SLOVENIJI

Sistematiko 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 sistematično 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 prognosti ne službe za varstvo rastlin. V tem prispevku obravnavamo samo rezultate posebnega nadzora fitoplazemskih bolezni trajnih nasadov v Sloveniji, ki so po kriteriju višine izplačil odškodnin za uradno uničene rastline v obdobju zadnjih desetih let med desetimi najpomembnejšimi boleznimi pri nas (slika 1).

2.1 Metli avost jablan

Metli avost jablan povzroča '*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 metli avost pojavlja v tretjini slovenskih pridelovalnih nasadov, kjer lahko najdemo od posamičnih simptomov do dreves,

pa do petine obolelih dreves, ki sicer ne propadejo, dajejo pa nižji in manj kakovosten pridelek (Osler in sod., 2001). Sistemati ni nadzor zlasti mati nih 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 mati nih 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 materi nem nasadu Selo, kjer so bile izvedene znatne krivice okuženih mati nih 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 koš in arjev; okužba okrasnih rastlin z viroidom krompirjeve vretenatosti – PSTVd; napad kostanjeve šiškariče na maronih – *Dryocosmus kuriphylus*; fitoplazemske bolezni na mati nih rastlinah sadnega drevja – AP, PD in ESFY; zlata trсна rumenica – *Flavescence dorée*; eradikacijski ukrepi viroidne zakrnelosti hmelja – HSVd in ukrepi preprečevanja širjenja za hrušev ožig – *Erwinia amylovora*).

2.2 Odmiranje hrušk

Odmiranje hrušk povzročajo '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 za etku 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. Sistemati ni nadzor (zlasti mati nih 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 večinoma škod nismo zabeležili, okužba je bila potrjena v vseh pridelovalnih območjih Slovenije, izkoreninjenje pa so bile okužene mati ne rastline.

2.3 Leptonekroza koš i arjev

Leptonekrozo koš i arjev (European stone fruit yellows - ESFY), ki jo povzroča fitoplazma '*Ca. P. prunorum*' (Seemüller & Schneider, 2004), specifično prenaša ešpljeva 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 pinhiemata*. Na gojenih in samoniklih vrstah iz rodu *Prunus* se pri nas zelo različno kažejo znamenja okužbe in njihova izraženost. Kot najbolj obutljivi vrsti se kažeta marelica *Prunus armeniaca* in kitajsko-japonska sliva *P. salicina*, pri nas odmirata 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 ešplje štejemo še rni 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 rnege 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 obutljivi 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 koš i arjev z ve različno virulentnimi sevi '*Ca. P. prunorum*', ki jih vse uspešno prenaša ešpljeva 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 koš i astega sadja. Za pridelavo zdravega sadilnega materiala in vzdrževanje mati nih 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 cepi ev 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 mati nih nasadov breskev, marelic in sliv. Leta 2009 so bile predpisane zahteve za potrjevanje mati nih rastlin v mrežnikih, kamor je osrednji pridelovalec cepi ev – Sadjarski center Bilje – posadil zdrav izhodišni material, ki je dajal vsaj neokužene cepi e, ki jih v naravnih razmerah ni več mogoče pridelovati (Ambroži Turk in sod., 2011). V mati nem 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 ob utljivost 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 povzročata 'Ca. Phytoplasma solani' je bila razširjena v pridelovalnih nasadih že v osemdesetih letih prejšnjega stoletja, ko so na Štajerskem zabeležili tudi značilne škode ob utljivih sort. Ko so leta 1983 na Primorskem odkrili pojav ameriškega škrtatka (*Scaphoideus titanus*), so znamenja trsni 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. Prav so bile simptomi ne trte izločene iz potrjevanja, se je trsna rumenica vseeno pojavila v mladih nasadih. Leta 1997 je bila v francoskem laboratoriju potrjena okužba slovenskih vzorcev sort Chardonnay in Rebula z navadno trsno rumenico, ki povzročata po rnelost lesa (Bois noir). Ker še ni bilo razvite ustrezne laboratorijske diagnostike, vizualno pa znamenja BN in FD ni mogoče ločevati med seboj, je bilo vse do razvoja natančne molekularne metode precej napaka njih objav o pojavu zlate trsne rumenice v Sloveniji. Leta 2002 smo pri elitni izvajati uradno sistematično raziskavo navzočnosti trsni rumenic, Nacionalni inštitut za biologijo pa je vpeljal laboratorijsko testiranje trsni 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 žuželjih prenašalcev iz vseh vinorodnih okolišev ter določanje vrste, temveč tudi seva fitoplazem, da bi jim bolj učinkovito ukrepali in omejili groze o epifitocijo zlate trsne rumenice (FD), ki jo povzročata 'Ca. Phytoplasma vitis'.

FD je bila v okviru posebnega nadzora trsni rumenic prvič ugotovljena leta 2005 v vinogradu v Škofijah pri Koprju 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 škrtatka 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 škrtatka 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 izbruh FD. V letih 2009 - 2012 so bila razmejena naslednja prva žarišča FD v novih okoliših (FURS, 2012):

- v Istri: Debeli Rti (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 Prvino in Vogrsko (določeno leta 2009 in razširjeno 2011); Dane pri Sežani (določeno leta 2011); Križ na Krasu, Šmarje pri Sežani in Brje pri Komnu (določeno leta 2012);
- na Dolenjskem, v Posavju in Beli Krajini: Piroški vrh (določeno leta 2008); Debenec in Orehovica (določeno leta 2009); Boršt (določeno leta 2010); razširjeni žarišči Straža pri Novem mestu ter Ljubeno-Reber (določeno leta 2009 in razširjeni v letih 2010, 2011 in 2012);

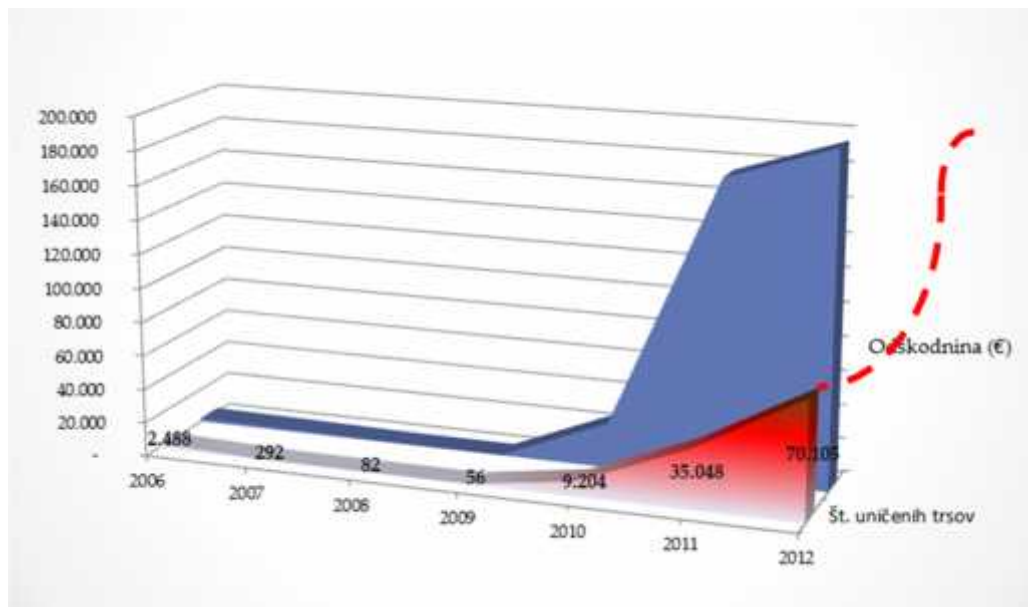
Golobinjek (dolo eno 2010 in razširjeno 2011); Senuše, Piršembreg in Orešje pri Bizeljskem (dolo ena leta 2012);

– na Štajerskem: Ivanjševski vrh (dolo eno leta 2011), Po ehova (dolo eno leta 2009), Zgornji Gabrnik v bližini Rogaške Slatine (dolo eno leta 2012), Svetinje pri Ormožu (dolo eno leta 2012);

– v Prekmurju: Dobrovnik (dolo eno leta 2009), Gerlinci (dolo eno leta 2010), Pince (dolo eno leta 2012).

V vinogradih vseh žariš (1 km krog okoli središ a okuženega vinograda) in pripadajo ih varnostnih pasovih (5 km krog okoli žariš a) so se pod nadzorom fitosanitarnih služb izvajali ukrepi zatiranja in intenzivnejše pregledovanje v vinogradih. Med posebnim nadzorom je bilo ugotovljeno, da so bile v žariš ih, 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 množi ne, populacija ameriškega škržatka pa velika. Pri žariš u Straža in nasploh na Dolenjskem gre za ve ji delež majhnih vinogradov (povpre na velikost registriranega vinograda 0,28 ha), kjer raste tudi nežlahtna vinska trta, na Primorskem pa gre pretežno za ve je tržne pridelovalce (povpre na velikost registriranega vinograda 1,1 ha). Ne prvi ne drugi pa pri kemi nem varstvu vinske trte niso vklju evali insekticidov. To je tudi glavni razlog, da je število izbruhov tod kljub predpisanim ukrepom in trudu služb na terenu naraš alo. Leto 2010 lahko šteje mo za za etek epifitocije, saj je bila FD odkrita na 12 novih lokacijah (na 6 lokacijah so bila razmejena žariš a, ostalo so bile razširitve že obstoje ih žariš).

196



Slika 2: Prikaz števila uni enih trsov in izpla ane odškodnine zaradi zlate trsne rumenice od prve najdbe v letu 2005 do 2012 (FURS, 2012). rtkana rta nakazuje morebiten trend v prihodnjih letih glede na epidemiološko osnovno reprodukcijsko število (Jeger, 2009).

Posebni nadzor trsnih rumenic vklju no s sistemati no raziskavo je doslej najdražji program, ki se je kadarkoli financiral za rastlinsko bolezen iz deleža državnega prora una Ministrstva za kmetijstvo in okolje. Ve sto sumljivih vzorcev trt in drugih gostiteljskih rastlin in žuželk, ki se laboratorijsko diagnosticirajo, naberejo pooblaš eni pregledniki in fitosanitarni inšpektorji. V letu 2009 se je prvi zaradi pove anega pojava sumljivih trt število testiranj pove alo za 52% glede na predhodno leto (na 372) in nekje na tej ravni tudi ostalo v

naslednjih letih. Strošek posebnega nadzora je znašal v letu 2010 62.295 EUR, pa še ni zadoš al za sistemati ni pregled vinorodnih okolišev. Vlada RS je nato sprejela ukrepe za prepre itev ve je gospodarske škode s programom izvedbe 2010-2011, a je ministrstvo pove ana finan na sredstva zagotovilo samo za leto 2010: skupaj 611.342 EUR. Od tega je bilo 73% sredstev porabljenih za terenske preglede in vzor enje, poskuse zatiranja in spremljanje zatiranja ameriškega škrtatka. V letu 2011 je bilo uradno pregledanih 923 ha vinogradov v žariš ih in 9503 ha vinogradov v neposredno ogroženem varnostnem obmo ju okoli žariš 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 žariš e bolezni. Kompleksnost zlate trsne rumenice se je pokazala z novo odkritimi okuženimi gostiteljskimi rastlinami (navadni srobot *Clematis vitalba*, rna jelša *Alnus glutinosa*, veliki pajesen *Ailanthus altissima*) in vektorskimi škrtatki (*Scaphoideus titanus*, *Dictyophara europaea*, *Orientalus ishidae*) (FURS, 2012).

V razmejenih žariš ih je zaradi odstranitve trt nastala škoda, ki je bila pridelovalcem povrnjena v obliki odškodnine za uni ene rastline. Na polovici amortizacijske dobe znaša odškodnina za 1 ha povpre nega rodnega vinograda na terasah po trgatvi 24.120 EUR, e gre za vinograd z nežlahtno trto (samorodnica) je za 1 ha odškodnina 6.615 EUR. Tudi izpla ane odškodnine zaradi FD so po letu 2010 skokovito narastle (slika 2).

3 TRITROFI NO RAZMERJE: FITOPLAZMA – VEKTOR - RASTLINA

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 razli ne vrste bolšic, ki imajo eno generacijo letno (enako škrtatki pri vinski trti). Bolšice se pozno poleti in jeseni selijo npr. s koš i arjev na iglavce - zimske gostitelje v gozdu – po prezimitvi pa nazaj na koš i arje (rod *Prunus*). Fitoplazma se v žlezah slinavkah bolšic namnožuje in ko doseže dolo eno število, se ob nadaljnjih vbodih v floem rastlin s slino prenese v rastlino, kjer se zopet pri ne namnoževati. Po okužbi s fitoplazmo ostane bolšica kužna do konca svojega življenja. Tako npr. v prezimuj o i hruševi bolšici prezimi tudi fitoplazma, ki na ta na in postane tudi mobilna: spomladi jo bo žuželka ponesla na velike razdalje do gostiteljske rastline. PD lahko hruševa bolšica med hranjenjem prenaša vso rastno dobo. ešpljeva 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 obmo ja naselitve?

Raziskave navajajo posredni mutualizem med žužel jimi prenašalci in fitoplazemskimi povzro iteljicami bolezni kot vzvod za naselitev novih škodljivih vrst na obmo je. Modelna analiza (Nakazawa *et al.*, 2012) kaže, da se lahko bolezen po ustalitvi na obmo ju trajno obdrži, eprav je za etna zastopanost povzro itelja in/ali vektorja nizka, zlasti e se prenašalec hrani na ob utljivih rastlinah. Patogeni lahko povzro ijo 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 (izlo anje metabolitov, spremenijo se volatilne snovi in sprejem hranil), to pa lahko vpliva na rodnost, preživetje in obnašanje žužel jih 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 prou evanju epidemiologije '*Ca. Phytoplasma mali*' so ugotovili, da fitoplazma sproži v jablanah tvorbo alomona β -kariofilena, ki privablja izlegle odrasle bolšice *Cacopsylla picta* (Mayer in sod., 2008), in sicer ne glede na to, ali je bolšica s fitoplazmo že okužena ali ne. Sinteti ni β -kariofilen so tako pri eli uporabljati za privabljanje samcev in samic jabol ne bolšice na rumene lepljive ploš e, ki so jih uporabljali pri

spremljanju fenofaz razvoja, odkritje pa je obetavno celo za razvoj nekemi ne metode zatiranja bolšic z masovnim lovljenjem na vabe (Mayer in sod., 2008).

Vedno ve empiri njih dokazov podpira idejo, da posredni mutualizem med prenašalci in povzročitelji boleznih 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 povzročijo en primer med dobo infekcije in pove osnovno reprodukcijsko število) v tem primeru ne pride v poštev (Jeger, 2009). Ta odkritja kažejo, da je spomladansko določanje 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 škrtatki so dokazali mutualizem: škrtatek 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 celicah zavira sintezo spojin, ki zmanjšajo obrambno sposobnost rastline (celjenje ran) – to je ugodno za razvoj škrtatkov, ki imajo več potomcev, več jih preživi in se hrani na okuženi rastlini ter prispeva k epidemilogiji boleznih. Fitoplazme tako aktivno dosežejo odziv in širitev s pomočjo prenašalcev (Sugio in sod., 2011).

4 RAZPRAVA IN SKLEPI

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 več znanje in celosten pristop v epidemiologiji fitoplazemskih boleznih. 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 pri ele povzročile atično 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 vrst novih fitofagih žuželk, od tega štirih novih neevropskih vrstah škrtatkov Auchenorrhyncha, ki so se razširili v Slovenijo po vnosu v sosednje države (Seljak, 2002). Eden izmed njih je tudi ameriški škrtatek *Scaphoideus titanus* Ball, 1932 (Cicadellidae). Pri analizi širjenja *Ca. Phytoplasma vitis* v slovenske vinograde, ki jo fitosanitarne službe izmed vseh karantenskih boleznih najbolj intenzivno spremljajo, je omenjen pojav oziroma izbruh boleznih po vsaki namnožitvi ameriškega škrtatka, ki zelo učinkovito prenaša fitoplazmo med trtami. Tujerodni ameriški škrtatek 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 okolišče 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 škrtatka. Toda tudi v vinorodnih okolišjih zahodne Slovenije je v letih 2010 – 2012 prišlo do velikih izbruhov zlate trsne rumenice, tako da razlika v nevarnosti epifitocije med zahodno in vzhodno Slovenijo ni več. Ali sta k temu naraslanju infekcijskega potenciala pripomogla vnos in širitev novih vektorjev (npr. *Orientalus ishidae*, ki je bil 2004 prvi 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 vrtov in parkov), ostaja odprto vprašanje. Na Krasu so s tem pajesnom sicer pogozdovali 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

namre 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 bolezni pri gojenih ve letnih rastlinah ob slabem zatiranju vektorjev v zadnjih letih pove uje 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 upoasnjevanju širjenja in gospodarskega vpliva bolezni sta najpomembnejša dejavnika zmanjševanje fitoplazemskega inokuluma in uinkovito zatiranje vektorjev. Pri zmanjševanju uporabe insekticidov pa sta najpomembnejša elementa izboljšano spremljanje vektorjev in napovedovanje ustreznih tretiranj žuželk jih 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 trsni arsko pridelavo (FURS, 2010). Dodati bi bilo potrebno še neocenjeno vrednost kulturne krajine, ki postane prizadeta, ko se pri nevarnih območjih opušča pridelava v trajnih nasadih. Tako opuščanje je zabeleženo v primerljivih grievnatih 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. eprav 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 uinkovitih metod zatiranja, ki bodo omogočale gospodarno kmetijsko pridelavo in bile še naravni in loveku prijazni, ni mogoče brez koordinirane strokovne službe varstva rastlin.

199

5 LITERATURA

- Ambroži 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., Blejček, 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., Pavlić, 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., Deli, 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., Vilcinskis, 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., Knapić 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., Knapić, 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., Petrović, 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 atežu 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?]. *Izville ki referatov 8. Slov. posv. o varstvu rastlin, Zrebe 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