

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.knapič@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 boleznin 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 boleznin in njihovih prenašalcev v Evropi domorodnih, je pri obvladovanju razširjenih boleznin temeljno vprašanje, kateri parametri dinamike razvoja boleznin so se v zadnjem času spremenili, da so prispevali k epifitocijam.

192

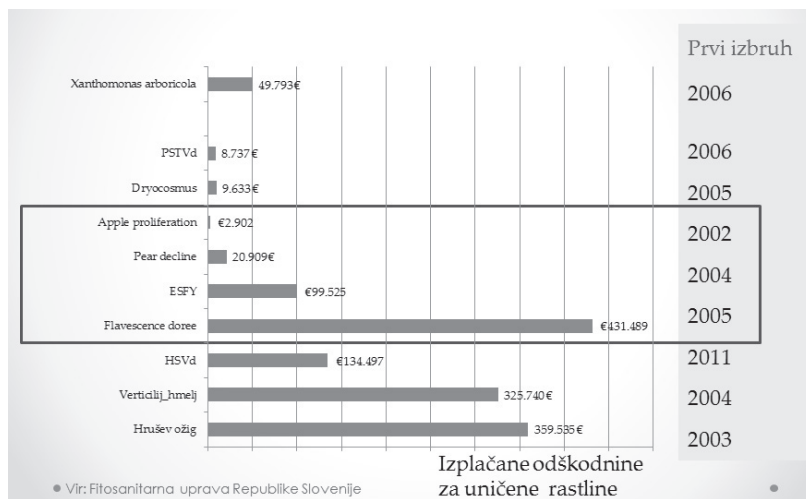
2 STANJE OKUŽENOSTI RASTLIN V SLOVENIJI

Sistematično ugotavljanje zdravstvenega stanja slovenskih sadovnjakov in vinogradov glede karantenskih boleznin 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 boleznin 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 povzročata 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 povzročata 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 kažeta 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 škrtatka (*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 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 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);

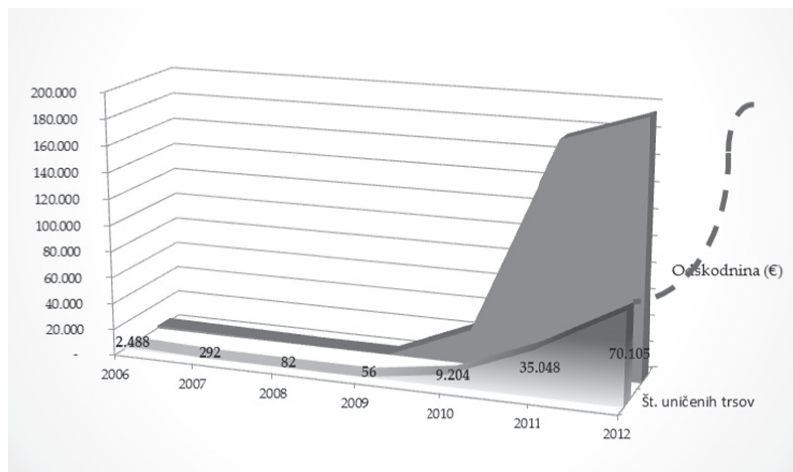
Golobinjek (določeno 2010 in razširjeno 2011); Senuše, Piršenbreg in Orešje pri Bizeljskem (določena leta 2012);

– 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 nežlahтно 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

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. Čespljeva 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.

199

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?]. *Izville 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