

**Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije  
Slovenian Institute for Hop Research and Brewing**

# **Hmeljarski bilten Hop Bulletin**

**14 (2007)**



**Žalec - Slovenija, 2007**

# Hmeljarski bilten / Hop Bulletin

ISSN 0350-0756

<b>Izdaja</b>	Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenija
<b>Odgovorni urednik</b>	Doc. dr. Martin Pavlovič
<b>Uredniški odbor</b>	Prof. dr. Branka Javornik (Ljubljana), prof. dr. Anton Ivančič (Maribor), doc. dr. Milica Kač (Ljubljana), dr. Andreja Čerenak (Žalec), dr. Dušica Majer (Ljubljana), dr. Janko Rode (Celje), dr. Elisabeth Seigner (Freising, ZRN), dr. Gregory K. Lewis (Durham, NC, ZDA).
<b>Tisk</b>	Tiskarna Marginalija, Rimska cesta 98 a, 3311 Šempeter v Savinjski dolini, Slovenija v 200 izvodih
<b>Naslov uredništva</b>	Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, Slovenija; <a href="mailto:martin.pavlovic@ihps.si">martin.pavlovic@ihps.si</a>
<b>Domača stran</b>	<a href="http://www.ihps.si">http://www.ihps.si</a>
<b>Naročnina</b>	Posamezna številka 20,- EUR
<b>Transakcijski račun</b>	06000-0006336339 Banka Celje d.d., Celje
<b>Bilten selektivno zajemajo</b>	COBISS, AGRIS, CAB Abstracts
<b>Dokumentacijska obdelava</b>	Mednarodna: Slovenski nacionalni center AGRIS Domača: INDOK Biotehniške fakultete v Ljubljani
<b>Uredniška usmeritev</b>	Prispevki s področja kmetijstva in agroživilstva so recenzirani
<b>Avtorska pravica</b>	© 2007 Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije

<b>Issued by</b>	Slovenian Institute for Hop Research and Brewing Žalskega tabora 2, SI - 3310 Žalec, Slovenia
<b>Editor in Chief</b>	Assist. Prof. Martin Pavlovič, Ph.D.
<b>Editor Board</b>	Prof. Branka Javornik, Ph.D. (Ljubljana), Prof. Anton Ivančič, Ph.D. (Maribor), Assist. Prof. Milica Kač, Ph.D. (Ljubljana), Andreja Čerenak, Ph.D. (Žalec), Dušica Majer, Ph.D. (Ljubljana), Janko Rode, Ph.D. (Celje), Elisabeth Seigner, Ph.D. (Freising, Germany), Gregory K. Lewis, (Durham, NC, USA).
<b>Printed by</b>	Tiskarna Marginalija, Rimska cesta 98 a, SI-3311 Šempeter v Savinjski dolini, Slovenia in 200 copies
<b>Address of Editor</b>	Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, Slovenia; <a href="mailto:martin.pavlovic@ihps.si">martin.pavlovic@ihps.si</a>
<b>Home page</b>	<a href="http://www.ihps.si">http://www.ihps.si</a>
<b>Subscription</b>	Individual issue 20,- EUR
<b>Account</b>	06000-0006336339 Banka Celje d.d., Celje
<b>Bulletin is indexed and abstracted by</b>	COBISS, AGRIS, CAB Abstracts
<b>Indexing, Classification and Networking</b>	International: Slovene National AGRIS Center National: INDOC of Biotechnical Faculty in Ljubljana
<b>Editorial policy</b>	Papers from area of agribusiness are reviewed and revised
<b>Copyright</b>	© 2007 Slovenian Institute for Hop Research and Brewing

Sofinancira (co-financed by) Javna agencija za raziskovalno dejavnost RS

# Hmeljarski bilten / Hop Bulletin

ISSN 0350-0756

## VSEBINA / CONTENTS

- Sebastjan RADIŠEK, Andreja ČERENAK, Branka JAVORNIK** 5-10  
ŽLAHNJENJE HMELJA NA ODPORNOST NA BOLEZNI:  
Postopki in tehnike pri selekciji križancev /  
HOP DISEASE RESISTANCE BREEDING:  
Procedures and techniques in selection of seedlings
- Viljem PAVLOVIČ, Andreja ČERENAK, Martin PAVLOVIČ,  
Črtomir ROZMAN** 11-17  
MOŽNOSTI UPORABE NUMERIČNIH METOD PRI ŽLAHTNJENJU  
HMELJA – IDEJNA ZASNOVA EKSPERTNEGA SISTEMA /  
USE OF NUMERICAL METHODS IN HOP BREEDING –  
CONCEPT OF AN EXPERT SYSTEM
- Sebastjan RADIŠEK, Jernej JAKŠE, Branka JAVORNIK,  
J. de GRUYTER** 19-28  
POJAV GLIVE *PHOMA EXIGUA* NA HMELJU V SLOVENIJI /  
THE APPEARANCE OF *PHOMA EXIGUA* ON HOP IN SLOVENIA
- Magda RAK CIZEJ, Lea MILEVOJ, Damijana KASTELEC** 29-36  
UGOTAVLJANJE PREFERENCE HROŠČEV HMELJEVEGA  
BOLHAČA (*Psylliodes attenuatus* Koch) V HMELJIŠČU, NA  
RAZLIČNIH SORTAH HMELJA /  
ASSESSMENT PREFERENCE OF HOP FLEA BEETLE  
(*Psylliodes attenuatus* Koch) IN HOP GARDEN ON DIFFERENT  
HOP CULTIVARS
- Dušica MAJER, Majda VIRANT** 37-42  
VPLIV GNOJENJA HMELJA Z DUŠIKOM NA VSEBNOST  
NITRATA V PIVU /  
INFLUENCE OF NITROGEN FERTILIZATION OF HOPS ON  
A NITRATE CONTENT IN BEER
- Mario LEŠNIK, Maja RAVNIKAR, Jernej BRZIN, Nataša MEHLE,  
Nataša PETROVIČ, Stanislav TOJNKO, Mojca LEŠNIK** 43-53  
EXPRESSION OF DISEASE SYMPTOMS ON DIFFERENT APPLE  
CULTIVARS INFECTED WITH APPLE PROLIFERATION  
PHYTOPLASMA /  
IZRAŽANJE BOLEZENSKIH ZNAMENJ PRI JABLANAH  
RAZLIČNIH SORT OKUŽENIH Z APPLE PROLIFERATION  
FITOPLAZMO

# Hmeljarski bilten / Hop Bulletin

ISSN 0350-0756

## VSEBINA / CONTENTS

- Matej KNAPIČ, Andrej SIMONČIČ** 55-61  
PRIMERJAVA OCEN IZPIRANJA IZBRANIH FITOFARMACEVTSKIH  
SREDSTEV S FOCUS MODELOMA PELMO IN PEARL NA SREDNJE  
GLOBOKIH EVTRIČNIH RJAVIH TLEH V SAVINJSKI DOLINI /  
COMPARISON OF LEACHING PREDICTION FOR SELECTED  
PRESTICIDES USING PELMO AND PEARL FOCUS MODELS ON  
MEDIUM DEPTH EUTRIC CAMBISOL IN THE SAVINJA VALLEY
- Martin PAVLOVIČ, Boštjan PETAK** 63-72  
ANALIZA UPORABE ELEKTRONSKIH MEDIJEV V  
KMEČKEM TURIZMU /  
ANALYSIS OF ELECTRONIC MEDIA USE IN FARM TOURISM
- Silvo ŽVEPLAN** 73-77  
ŽIVETI S PELINOLISTNO AMBROZIJO (*Ambrosia artemisiifolia* L.) /  
LIVING WITH THE RAGWEED COMMON (*Ambrosia artemisiifolia* L.)

## **ŽLAHNJENJE HMELJA NA ODPORNOST NA BOLEZNI: Postopki in tehnike pri selekciji križancev**

Sebastjan RADIŠEK<sup>1</sup>, Andreja ČERENAK<sup>1</sup>, Branka JAVORNIK<sup>2</sup>

UDC / UDK 633.791:632.4 (497.4)(045)  
pregledni znanstveni članek / review article  
prispelo / received: 25.10.2007  
sprejeto / accepted: 12.12.2007

### **IZVLEČEK**

Cilj vzgoje novih sort hmelja na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije je povečana količina in kvaliteta pridelka (grenčica, aroma) ter odpornost na bolezni in škodljivce. V prispevku so predstavljeni postopki selekcij križancev na najpomembnejše bolezni hmelja - hmeljeva peronospora, hmeljeva pepelovka in hmeljeva uvelost.

**Ključne besede:** hmelj, žlahtnjenje, bolezni, odpornost

### **HOP DISEASE RESISTANCE BREEDING: Procedures and techniques in selection of seedlings**

### **ABSTRACT**

The breeding programme of new hop varieties at the Slovenian Institute for Hop Research and Brewing is concentrated to the improved quantity and quality (bitterness, aroma) of the yield and resistance against diseases and pests. In our article, procedures in selection of seedlings to the most important hop diseases are (downy mildew, powdery mildew and Verticillium wilt) are outlined and discussed.

**Keywords:** hop, breeding, diseases, resistance

---

1 Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec;  
[sebastjan.radisek@ihps.si](mailto:sebastjan.radisek@ihps.si)

2 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za genetiko, rastlinsko biotehnologijo in žlahtnjenje, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

## 1 UVOD

Odpornost rastlin na bolezni je eden izmed pomembnih dejavnikov integriranega varstva rastlin in predstavlja glavni izziv pri žlahtnjenju novih sort. Na splošno velja, da je ocenjevanje deleža okuženega tkiva dober pokazatelj odpornosti rastlin. Vsekakor pa delež okuženega tkiva ni rezultat le stopnje odpornosti rastlin ampak tudi interakcij z ostalimi dejavniki, med katerimi lahko omenimo koncentracijo inokula, neenakomerna razporeditev inokula, vitalnost rastline in vplive okolja. Tako je uporaba ustreznih selekcijskih metod in razumevanje interakcij na nivoju rastlina-patogen nujna za vzgojo odpornih rastlin.

Žlahtnjenje hmelja ima na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) več kot 50-letno tradicijo, rezultati dela pa se kažejo v 12 lastnih sortah hmelja. Danes je nad 95% slovenskih hmeljišč zasajenih s slovenskimi sortami hmelja, od katerih največji delež z več kot 60 % predstavlja sorta Aurora. Prvotno je bil program vzgoje odpornih sort osredotočen predvsem na dve glavni bolezni; hmeljevo peronosporo (*Pseudoperonospora humuli* (Miyabe & Takah.) G.W. Wils.) in hmeljevo pepelovko, ki jo povzroča gliva *Podosphaera macularis* Wallr. U. Braun & Takam. Od leta 1997, ko je na območju zahodnega dela Savinjske doline prišlo do izbruha in širjenja letalne oblike hmeljeve uvelosti [8] je eden izmed glavnih ciljev žlahtnjenja tudi odpornost na omenjeno bolezen.

V članku so predstavljene selekcijske metode, ki se uporabljajo pri vzgoji novih sort hmelja.

## 2 SELEKCIJA NA HMELEJEVO PEPELOVKO

Med glivo *Podosphaera macularis* in hmeljno rastlino je potrjena »gen za gen« interakcija, v kateri so odkriti različni geni odpornosti (RB, R1, R2, R3, R4, R5, R6) in njim ustrezni patotipi [4, 10, 11]. V tem sistemu je del R genov aktiven pri interakciji z določenimi patotipi in neaktiven pri drugih patotipih. Kadar populacijo patogena tvorijo različni patotipi ravno ti neaktivni geni dajejo zlahka občutek, da gre za pojav delne odpornosti. Glede na to se je potrebno pri umetnih okužbah rastlin v tovrstnih odnosih izogniti uporabi mešanic različnih patotipov in uporabiti en patotip s čim višjo stopnjo patogenosti oz. širino virulence [7]. Pri selekcijah na odpornost je prav tako pomembno, da omogočajo hkratno testiranje večjega števila genotipov. V primeru hmeljeve pepelovke je to možno izvesti na mladih sejančkih, saj se R geni izražajo tudi v mladem tkivu [2, 3].

Selekcijo na hmeljevo pepelovko izvajamo v rastlinjaku. Kot vir okužbe se uporablja glivni izolat, ki ga pridobimo iz okuženih storžkov v hmeljiščih v predhodnem letu. Izolat namnožimo na hmeljnih rastlinah občutljivih sort, ki so posajene v loncih (Magnum, Northern Brewer, Southern Star,...). Po fazi dormance se inokulatorske rastline en mesec pred sejanjem semen hmelja prestavijo v rastlinjak, kjer se ob primernih pogojih dobro razrastejo in postanejo močno okužene s hmeljevo pepelovko. Ko sejančki dosežejo velikost 15-20 cm, namestimo med njih kot vir okužbe inokulatorske rastline. V zadnjih dveh letih smo vpeljali tudi okuževanje s suspenzijo spor, katere prednost je zagotavljanje enakomerne razporeditve in koncentracije inokula. Inokulum pripravimo s spiranjem konidijev iz okuženih listov inokulatorskih rastlin z 0,01 % (vol/vol) raztopino Tween 20. Suspenzijo spor umerimo s Thoma števno komoro na koncentracijo 50.000 konidijev/ml. Rastline okužimo z nanosom suspenzije z ročno razpršilko. Približno po 2-3 tednih pričnemo s selekcijo in ocenjevanjem sejančkov. Družine in posamezne

sejančke ocenimo z lestvico od 0 do 4 glede na delež okužene listne površine s hmeljevo pepelovko (0 = 0%, 1 = ≤ 10%, 2 = 11-30%, 3 = 31-60%, 4 = > 60%). Vse rastline ocenjene s 3 ali 4 uničimo, rastline z nižjimi ocenami pa nadaljujejo postopek vzgoje novih sort.

### 3 SELEKCIJA NA HMELJEVO PERONOSPORO

Oomiceta *Pseudoperonospora humuli* je eden izmed najpomembnejših patogenov v pridelovanju hmelja. Povzročča lokalizirane infekcije listja, cvetov in storžkov ter sistemične infekcije, katerih rezultat so klorotični poganjki, okrnjeni v rasti ('kuštravci') in propadanje koreninskega sistema. Pri rastlinah so znani različni tipi genetske odpornosti na oomicete, ki so določeni na podvrstnem ali sortnem nivoju (specifična odpornost sorte na sev), ali na vrstnem oz. rodovnem nivoju (negostiteljska ali nespecifična odpornost). Glede na opravljena opazovanja je odpornost hmelja na hmeljevo peronosporo kvantitativna lastnost, ki je kontrolirana poligeno [6]. Znana je različna ekspresija odpornosti hmeljnega tkiva, saj so nekatere sorte precej odporne na sistemične infekcije korenike in hkrati občutljive na okužbo storžkov ter obratno [9]. Poleg omenjenega je pri odpornosti potrebno omeniti še nejasnost vloge spolne faze (oospore) in ostalih genetskih mehanizmov pri fiziološki specializaciji patogena.

Na IHPS se selekcija na hmeljevo peronosporo izvaja na sejančkih po končani selekciji na hmeljevo pepelovko. Vir okužbe predstavljajo sistemično okuženi primarni in sekundarni poganjki (kuštravci), ki jih spomladi nabereмо v hmeljiščih. Sporulacijo pospešimo s škropljenjem kuštravcev s sterilno destilirano vodo in inkubacijo v plastičnih vrečkah čez noč pri sobni temperaturi in v temi. Inokulum pripravimo s spiranjem sporangijev iz listov s sterilno destilirano vodo, nakar suspenzijo umerimo s Thoma števno komoro na koncentracijo 50.000 sporangijev/ ml. Rastline okužimo s pršenjem z ročno razpršilko in čez noč pokrijemo s plastično folijo, s čimer zagotovimo visoko zračno vlažnost. Po 6-8 dnevih se pojavijo prvi znaki infekcije na listih, vendar pa se selekcija izvede šele, ko se razvijejo terminalni kuštravci (po 14-21 dnevih). Vse sejančke z razvitimi kuštravci ali visoko okuženostjo listov izločimo, odpornost družin sejančkov pa se zabeleži kot odstotek selekcioniranih rastlin.

### 4 SELEKCIJA NA HMELJEVO UVELOST

Hmeljeva uvelost je sistemska bolezen, ki jo povzročata talni glivi *V. albo-atrum* in *V. dahliae*. Glivi vstopita v rastline z neposredno penetracijo v ravnih regijah korenin ali skozi poškodbe, ki olajšajo dostop do prevodnega sistema. Rastline prizadeneta z akumulacijo biomase v ksilemu kar otežuje oskrbo z vodo in hranili. Ob tem tvorita fitotoksine in spekter različnih encimov za razgradnjo celičnih sten, kot so pektinaze, polisaharidaze in proteinaze. Za razvoj bolezni morata biti zadoščena dva pogoja, in sicer (1) vstop glive v prevodni sistem in (2) naselitev glive v prevodnem sistemu. Glede na to se vsak mehanizem gostiteljske rastline, ki pripomore k preprečitvi vstopa patogena v prevodno tkivo ali omejitvi širjenja patogena po rastlini smatra kot del odpornosti na hmeljevo uvelost [14]. Mehanizmi odpornosti, ki vplivajo na prvi pogoj so akumulacija kaloznega tkiva okrog penetracijske hife (tvorba ligninskih gomoljev) in tvorjenje fitoaleksinov. Mehanizmi, ki se pojavijo po začetni infekciji prevodnega sistema pa so tvorjenje til, gelov sinteza fitoaleksinov in nastanek oksidacijskih reakcij [1, 14].

Obrambne reakcije rastlin pred vstopom patogena v prevodno tkivo niso specifične in jih srečamo pri večini gostiteljskih rastlin, medtem ko v primeru vstopa patogena v prevodno tkivo prihaja do specifičnega odziva, kar opazimo kot razlike v odpornosti posameznih sort [13].

Pri hmelju sta znana dva bolezenska sindroma, letalni (progresivni) in blagi sindrom, katerih razvoj je pogojen z virulenco patogena, občutljivostjo hmeljnih sort in vpliva okolja [5, 12, 14]. Hmeljeva uvelost, ki jo povroča *V. dahliae* je relativno redka in se odraža z blagimi simptomi, medtem ko *V. albo-atrum* kaže večjo preferenco za hmelj in povzroča glavno izbruhov tako letalne kot blage oblike bolezni. Do blage oblike prihaja ob okužbah občutljivih sort hmelja z manj virulentnimi izolati ali pri tolerantnih sortah okuženih z zelo virulentnimi izolati. Letalna oblika bolezni se razvije iz okužb občutljivih sort hmelja z zelo virulentnimi izolati.

Preizkušanje odpornosti hmeljnih genotipov se na IHPS izvaja na prostorsko izolirani lokaciji pri zunanjih pogojih ali pozimi v kontroliranih pogojih rastišnih komor. Rastlinski material predstavljajo rastline, vzgojene z zelenim razmnoževanjem, stare vsaj 1 leto in posajene v lončke. Vsako leto testiramo skupno 30-40 genotipov hkrati z referenčnimi sortami, ki vključujejo občutljivi sorti Fuggle in Celeio, delno odporno sorto Wye Challenger in odporno Wye Target. Za inokulacijo uporabljamo vsaj 3 visoko virulentne izolate glive *V. albo-atrum* (patotip PV1; genotip PG2), ki povzročajo letalno obliko bolezni. Inokulum pripravimo s 5 dnevnim gojenjem kultur izolatov v tekočem gojišču (General fungal medium; [15]) na rotacijskem stresalniku (50 rpm) pri sobni temperaturi in v temi. Spore s filtracijo ločimo od biomase in umerimo v sterilni destilirani vodi na koncentracijo  $5 \times 10^6$  konidijev. Dvanajst rastlin vsakega genotipa inokuliramo z 10 minutnim namakanjem korenin v inokulu. Inokulirane rastline posadimo v 4l lonce ter navijemo na vodila dolžine 3 m, ki so pritrjena na žično oporo. Dognojevanje poteka tedensko z dodajanjem visokih odmerkov dušičnih gnojil, kar ugodno vpliva na razvoj glive in izražanje bolezenskih znamenj. Prvi simptomi se pojavijo približno 4 tedne po inokulaciji. Rastline tedensko opazujemo in ocenjujemo s skalo od 0-5 glede na delež prizadete listne površine (PLP). Ocena 0 predstavlja rastline brez bolezenskih znamenj, 1 = 1 - 20 % PLP, 3 = 41 - 60 % PLP, 4 = 61 - 80 % PLP in 5 = 81 - 100 % PLP. Po končanem opazovanju zunanjih bolezenskih znamenj se oceni še stopnja kolonizacije prevodnega tkiva s prerezom stebel in korenin (skala 0-2). Potrditev okužbe posameznih rastlin izvedemo z reizolacijo glive v sterilnih pogojih na krompirjev agar, pri čemer identifikacijo potrdimo na osnovi morfoloških lastnosti kulture s svetlobnim mikroskopom. Končna ocena genotipa se izrazi kot povprečna vrednost ocen bolezenskih znamenj pri okuženih rastlinah in je razvrščena v eno izmed 3 kategorij odpornosti: 0-1: odporen, 2-3: srednja odpornost, 4-5: občutljiv. Pri odpornih genotipih se z namenom potrditve ocenjevanja preizkušanje ponovi v naslednji sezoni ali v rastni komori v zimskem času.

## 5 SELEKCIJA NA POLJU (hmeljeva peronospora in pepelovka)

Po začetni selekciji na hmeljevo peronosporo in hmeljevo pepelovko na stopnji sejancov rastline posadimo na polje, kjer opazujemo še ostale agronomsko pomembne lastnosti. Na istem polju posadimo kot kontrolne rastline občutljive sorte (Magnum za hmeljevo pepelovko; Bobek ali Savinjski golding za hmeljevo peronosporo). Prvoletni nasad oskrbujemo z načeli dobre agronomske prakse, medtem ko dvo- in večletne nasade med vegetacijo ne škropimo proti hmeljevi pepelovki. Škropljenje proti hmeljevi peronospori v spomladanskem času izvršimo šele po tem, ko se na občutljivih rastlinah pojavijo znaki sistemične okužbe, kar nam omogoči dodatno izločitev zelo občutljivih genotipov. Vsaka rastlina je ocenjena glede na pojav



okuženega tkiva po lestvici od 0-2 in sicer odporne z 0 (brez ali s šibkimi bolezenskimi znamenji), delno odporne (1 – srednja stopnja okuženosti) in občutljive (2 – visoka stopnja okuženosti). Enak postopek se uporablja v kolekcijskem nasadu s posajenimi 5, 10 ali 20 rastlinami posameznega genotipa.

## 6 RAZVOJ SELEKCIJ V PRIHODNJE

V članku so predstavljene selekcijske metode s ciljem vzgoje novih sort hmelja, ki bodo vključevale trajno ali vsaj delno odpornost na bolezi. Trenutno selekcije izvajamo na osnovi ocenjevanj bolezenskih znamenj, katerih razvoj na rastlinah je odvisen od interakcij med mnogimi dejavniki.

Prav tako so nekatere tehnike v procesu selekcije tehnično in časovno zahtevne, zato se v prihodnje odpirajo možnosti za nadgradnjo obstoječih selekcij z uporabo različnih markerskih sistemov (MAS; angl. Marker Assisted Selection), med katerimi lahko kot zelo uporabne omenimo molekulske markerje.

## 7 VIRI

1. Beckman, C.H., The nature of wilt diseases of plants.- American Phytopathology Society, (1987). St. Paul, Minnesota, s. 182.
2. Darby, P., Single gene traits in hop breeding.- Proceedings of the Scientific Commission of the International Hop Growers Convention, Ed.: Seigner E. Canterbury, Kent, England, 5-7 August 2001, pp 76-80.
3. Darby, P., Mansfield, J. W., Godwin J.R. The assessment of partial resistance to powdery mildew in hops.- Plant Pathology 38(1989), s. 219-225.
4. Godwin, J.R., Resistance to powdery mildew disease in hops.- PhD Thesis (1985), University of London, Wye College.
5. Isaac, I., Keyworth, W. G., *Verticillium* wilt of the hop (*Humulus lupulus*). A study of the pathogenicity of isolates from fluctuating and from progressive outbreaks.- Annals of Applied Biology 35(1948), s. 243-249.
6. Neve R.A., Hops.- London, Chapman and Hall, (1991), s. 266.
7. Parlevliet, J.E., Can horizontal resistance be recognized in the presence of vertical resistance in plants exposed to a mixture of pathogen races.- Phytopathology, 73(1983), s. 379.
8. Radišek, S., Jakše, J., Javornik, B. Genetic variability and virulence among *Verticillium albo-atrum* isolates from hop.- European Journal of Plant Pathology 116(2006), s. 301–314.
9. Royle, D., Kremheller H. T. Downy mildew of the Hop.- The Downy mildews. Academic press, London, (1981), s. 395-419.
10. Seefelder S., Lutz A., Seigner E., Mapping of a powdery mildew resistance gene in hop (*Humulus lupulus* L.).- Proceedings of the Scientific Commission of the International Hop Growers Convention, George, South Africa, 20-25 February 2005, s. 31-34.

11. Seigner E., Seefelder S., Haugg B., Hesse H., Rösch H., and Felsenstein F., Investigations on the virulence spectrum of hop powdery mildew (*Sphaerotheca humuli*).- Proceedings of the Scientific Commission of the International Hop Growers Convention, Canterbury, Kent, England, 5-7 August 2001, s. 33-37.
12. Sewell, G. W. F., Wilson, J. F., The nature and distribution of *Verticillium albo-atrum* strains highly pathogenic to the hop.- Plant Pathology 33(1984) s. 39-51.
13. Talboys, P. W. Some mechanisms contributing to *Verticillium* resistance in the hop root.- Transactions of British Mycological Society. 41(1958) s. 227-241.
14. Talboys, P. W., Resistance to vascular wilt fungi.- Proceedings of the Royal Society (London), 181(1972) s. 319-333.
15. Weising K., Nybom H., Wolff K., Meyer K., Fingerprinting in Plants and Fungi.- London, CRC Press, Inc., (1995) s. 322.

## MOŽNOSTI UPORABE NUMERIČNIH METOD PRI ŽLAHTNENJU HMELJA – IDEJNA ZASNOVA EKSPERTNEGA SISTEMA

Viljem PAVLOVIČ<sup>1</sup>, Andreja ČERENAK<sup>2</sup>, Martin PAVLOVIČ<sup>2</sup>, Črtomir ROZMAN<sup>3</sup>

UDK / UDC 633.791:631.528 (045)  
pregledni znanstveni članek / review article  
prispelo / received: 25.08.2007  
sprejeto / accepted: 11.11.2007

### IZVLEČEK

V programu žlahtnjenja hmelja, ki poteka na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije že od leta 1952, poskušajo slediti novostim, ki se porajajo v verigi od pridelovalcev do trgovcev hmelja in pivovarske industrije. Številni razpoložljivi podatki pa so pri odločitvah o kakovosti križancev in primernosti nove sorte lahko tudi zavajajoči, saj lahko nevede prezremo nekatere ključne momente. Ekspertni sistemi temelječi na numeričnih metodah vse bolj prodirajo v segment pomoči pri odločanju. Cilj uporabe numeričnih metod v klasifikacijskih analizah je izdelava objektivne in stabilne klasifikacije. V tem segmentu je računalniški model nenadomestljivo orodje v rokah eksperta. Metode umetne inteligence sicer ne bodo nadomestile ekspertov, lahko pa so nam v pomoč pri odločanju. V ospredju sta predvsem hitrost in zanesljivost procesiranja informacij kar pa je ključnega pomena za kvalitetno odločanje. V prispevku je prikazana možnost uporabe numeričnih metod pri klasični metodi žlahtnjenja hmelja.

**Ključne besede:** žlahtnjenje, ekspertni sistem, umetna inteligenca, podpora odločanju

## USE OF NUMERICAL METHODS IN HOP BREEDING – CONCEPT OF AN EXPERT SYSTEM

### ABSTRACT

In the programme of hop breeding that has been carried out at the Slovenian Institute of Hop Research and Brewing since 1952, they try to follow the new trends appearing within the chain from hop growers to hop consumers. The high amount of available data can easily be misleading while deciding on the quality of hybrids and suitability of new sorts because some of the key elements can unintentionally be overlooked. The use of expert systems based on numerical methods has increasingly been influencing the decision-making process. Numerical methods are used in classification analyses in order to obtain objective and stable classification. In this segment the computer model is an irreplaceable tool in the hands of an expert. Methods based on artificial intelligence cannot replace experts but they can be of great help in the field of decision-making. Speed and reliability of processing information are in the forefront which is crucial to efficient decision-making. The article presents the use of numerical methods used in the field of classical hop breeding.

**Key words:** hop breeding, expert system, artificial intelligence, support for decision-making

---

<sup>1</sup> Alfa college, d.o.o., Celje; [viljem.pavlovic@guest.arnes.si](mailto:viljem.pavlovic@guest.arnes.si)

<sup>2</sup> Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalskega tabora 2, 3310 Žalec

<sup>3</sup> Fakulteta za kmetijstvo Maribor, Vrbanska 30, 2000 Maribor

## 1 UVOD

Genetska diverziteteta v kmetijstvu se že tisočletja uporablja pri divjih in gojenih rastlinah. Zaradi napredka znanosti danes ustvarjamo različne sorte rastlin, ki so bolj prilagojene okolju. Agroekosistemi so zato najbolj napredni produktivni sistemi, vendar so hkrati tudi najbolj ranljivi in občutljivi na spremembe podnebja, rastlinske škodljivce in bolezni, živalske bolezni itd. Genetsko izboljšavo ene ali več lastnosti kmetijskih rastlin lahko dosežemo s klasičnim žlahtnjenjem ali s postopki biotehnologije. Klasično žlahtnjenje je dobilo znanstveno osnovo v začetku 20. stoletja, ko so izbiro metod žlahtnjenja začeli prilagajati novim spoznanjem genetike, rastlinske fiziologije in drugih razvijajočih se ved, tehnologija rekombinantne DNA pa sega v zgodnja 80-leta prejšnjega stoletja [2].

Cilj žlahtnjenja hmelja je zadovoljiti potrebe celotne verige hmeljne industrije. Zato obstajajo številni programi žlahtnjenja novih sort hmelja. Ciljne lastnosti novih sort vključujejo visoko vsebnost alfa kislin, kakovostno dobro aromo, visoke pridelke in odpornost proti pomembnejšim boleznim in škodljivcem. Sem uvrščamo predvsem hmeljevo peronosporo (*Pseudoperonospora humuli* (Miyabe & Takah.) G.W. Wils.), hmeljevo pepelovko (*Sphaerotheca humuli* Wallr. U. Braun & Takam), hmeljevo uvelost (*Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold) in škodljivce kot so hmeljeva listna uš (*Phorodon humuli* Schrank) ter navadna (hmeljeva) pršica (*Tetranychus urticae* Koch.). Glavni porabnik hmelja je pivovarska industrija. Ta potrebuje stabilne količine kakovostnega hmelja zelenih sort in izvora, ob nizki ceni in konstantni kakovosti [7, 9, 10].

Žlahtnjenje rastlin poteka običajno s križanji, opazovanjem križancev in selekcijo. Težava je le v tem, da sam postopek vzgoje nove sorte traja 10 ali več let pri tem pa je interes pridelovalcev čim hitrejši odziv na zahteve industrije. Raziskave kažejo, da lahko sodobni molekulski pristopi bistveno prispevajo k učinkovitejši vzgoji izboljšanih novih sort. Ljudje smo zaradi tehnologij, ki bi nam lahko koristile, a so bile v preteklosti zlorabljene, postali nezaupljivi in previdni. Hitrejša vzgoja novih sort po klasični poti žlahtnjenja s pomočjo molekulskih pristopov je tako alternativna smer razvoja, žlahtnitelji pa se tudi tu lahko poslužujejo sodobnih metod [10, 13].

Za opis genetske diverziteteta hmelja se uporabljajo numerični podatki kemijskih analiz in fizikalnih meritev ter senzorične ocene hmeljne rastline. Za kvalitetno odločitev pri selekciji in nadaljnji vzgoji se pri klasičnem žlahtnjenju eksperti lahko zanašajo predvsem na svoje izkušnje in nepregledno množico numeričnih podatkov, kjer ni vedno enostavno opaziti korelacij. Kvalitetna in hitra odločitev na osnovi množice podatkov lahko občutno skrajšata čas do predstavitve nove sorte. Pri tem so nam lahko v veliko pomoč metode za podporo odločanju.

Odločanje je proces, v katerem je potrebno izmed več variant izbrati tisto, ki v največji meri zadosti našim željam in zahtevam. Poleg izbora najboljše variante je dobro, če lahko variante tudi rangiramo. Pri izbiri nove sorte hmelja so variante posamezni križanci. Odločanje je običajno del splošnega reševanja problemov in nastopa kot pomembna mentalna aktivnost na praktično vseh področjih človekovega delovanja. Težavnost odločitvenih problemov je zelo raznolika. Sega od enostavnih osebnih odločitev, ki so večinoma rutinske in se jih niti ne zavedamo, vse do kompleksnih, kjer se je nemogoče znati že med količino podatkov, ki jih ima ekspert pred sabo. Najpomembnejši problemi, ki nastopajo pri težkih odločitvenih problemih, izvirajo iz [6]:

- velikega števila dejavnikov, ki vplivajo na odločitev,
- številnih oziroma slabo definiranih ali poznanih variant,
- zahtevnega in pogosto nepopolnega poznavanja odločitvenega problema in ciljev odločitve,
- obstoja več skupin odločevalcev z nasprotujočimi si cilji in
- omejenega časa in drugih virov za izvedbo odločitvenega procesa.

S problemi odločanja se ukvarja vrsta znanstvenih področij in disciplin, od filozofije, psihologije, ekonomije in matematike, do bolj specifičnih, kot sta odločitvena teorija in odločitvena analiza. Posebej pomembno je vprašanje, kako *pomagati* odločevalcu, da bi na sistematičen, organiziran in čim lažji način prišel do kvalitetne odločitve. V zahtevnih odločitvenih problemih, v katerih se pojavlja veliko število dejavnikov, ki imajo vpliv na odločanje s strani različnih odločevalcev, si je smiselno pomagati z večparametrijskimi modeli. Tako odločevalec gradi strukturiran model, ki omogoča sistematičnost in preglednost procesa odločanja. Model omogoča, da so doseženi izhodni rezultati bolj razumljivi, kar ima pozitiven učinek pri utemeljevanju odločitve. Vsekakor se je treba zavedati, da končne odločitve ni možno prenesti na model oziroma računalnik, saj je naloga in odgovornost eksperta, da stoji za sprejetimi odločitvami ne glede na to, kako so bile sprejete.

## 2 EKSPERTNI SISTEMI ZA PODORO ODLOČANJU

Ekspertni sistemi podpirajo umsko delo strokovnjakov, ki se ukvarjajo z oblikovanjem, postavljanjem diagnoz, procesom odločanja ali obvladovanjem kompleksnih situacij, kjer je potrebno znanje človeškega eksperta na ozkem in dobro definiranim področju. Pri tem uporabljajo tehnike umetne inteligence, ki so bile razvite pri proučevanju računalniške predstavitve znanja izvedencev. Pomembna lastnost, ki jo od ekspertnega sistema pričakujemo je, da lahko smiselno uporablja tudi nepopolne in nezanesljive informacije. Zaradi tega se lahko pojavijo vprašljive rešitve v procesu sklepanja. Uporaba negotovih podatkov in nezanesljivih relacij zahteva verjetnostno sklepanje. Ljudje smo sposobni razpoznavati vzorce, značilne za posamezna problemska področja, najdemo se v novih, nepredvidljivih situacijah, računalnik pa odlikuje sposobnost ponavljanja velikega števila operacij, hitrost, sistematičnost in praktična nezmotljivost [6, 11].

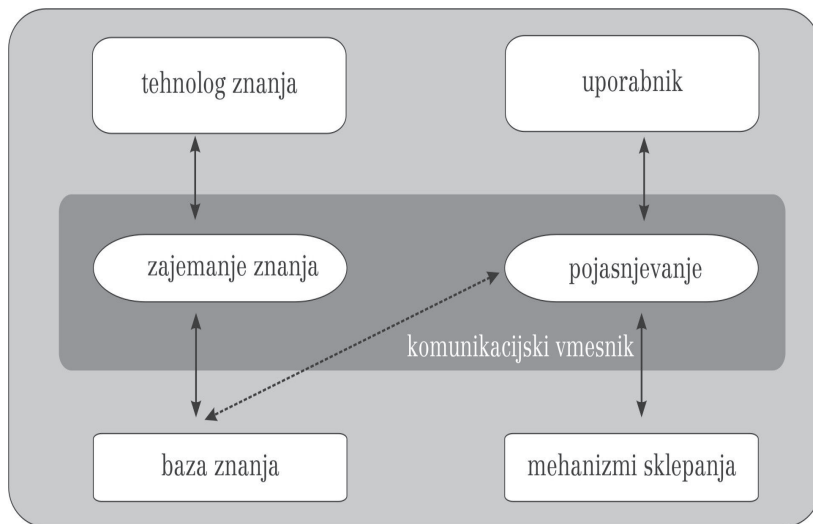
Ekspertni sistemi so značilno računalniške rešitve, ki služijo kot pomoč pri reševanju problemov. Njihovo izhodišče je v tem, da se ekspertno znanje posameznika učinkovito prenese v računalniško podprt model, ki ima sposobnost to znanje posnemati. Dobro oblikovani sistemi posnemajo razumske procese, ki jih eksperti uporabljajo za reševanje specifičnih problemov. Vsem ekspertnim sistemom je skupno, da so narejeni za reševanje nekega konkretnega problema. Stično točko vseh ekspertnih sistemov lahko opišemo v izrazoslovju umetne inteligence s trditvijo, da mora sistem v problemskem prostoru znati oceniti dano situacijo in ustrezno ukrepati [6, 12].

Ena najpomembnejših lastnosti ekspertnih sistemov je zmožnost pojasnjevanja rešitve, s čimer sistem postane transparenten oziroma uporabniku razumljiv. Sistem mora pojasniti svojo rešitev v takšni obliki, da jo uporabnik lahko preveri in v primeru, ko se z rešitvijo ne strinja, ugotovi vzrok svoje napake ali napake sistema. Ekspertno obnašanje se torej odlikuje po transparentnosti znanja in razlage [11].

Sistemi, ki temeljijo na bazah znanja in sistematičnem pregledovanju, nudijo podporo človeškemu dolgotrajnemu spominu, ki ima zelo veliko kapaciteto. Problem pa predstavlja priklicati vso to količino podatkov v zavest. Iskanje podatkov tako lahko vzpodbudimo s polnjenjem ekspertnih sistemov. Podatki sami zase pa nam kaj malo povedo, če ne najdemo med njimi korelacij.

Avtomatizirano odkrivanje zanimivih vzorcev v podatkih je poznano pod različnimi imeni. Najbolj uveljavljen izraz za celoten proces je »odkrivanje znanja v podatkovnih bazah« (Knowledge Discovery in Databases), pri čemer je »podatkovno rudarjenje« (Data Mining) zgolj specifičen korak v procesu in se nanaša na aplikacijo algoritmov za izpeljavo vzorcev. Podatkovno rudarjenje je eden najpomembnejših korakov v procesu odkrivanja znanja. Uporablja se za odkrivanje vzorcev in relacij iz podatkov, ki pomagajo pri boljših odločitvah. Razvilo se je iz preseka raziskav na področjih podatkovnih baz, strojnega učenja, razpoznavanja vzorcev, statistike in vizualizacije podatkov.

Danes imamo na razpolago več zelo močnih orodij za podatkovno rudarjenje. Če je ta pojem v začetku 60 let zajemal predvsem klasične postopke statistične analize, se je danes postopek rudarjenja podatkov oddaljil od zgolj uporabe statističnih postopkov. Približal se je bolj poglobljenim pristopom, kako iz zbranih podatkov nekaj razložiti oziroma napovedati. V poznih osemdesetih se je postopek klasične statistične analize nadgradil z izbranimi tehnikami, kot so mehka logika, hevristična metoda reševanja problemov in nevronske mreže [6].



**Slika 1:** Shematska zgradba ekspertnega sistema

**Figure 1:** The expert system structure

### 3 PREDPOSTAVKE KONCEPTA EKSPERTNEGA MODELA

Izbiro ustrezne metode žlahtnjenja narekujejo specifične lastnosti hmeljne rastline (trajna, dvodomna rastlinska vrsta, storžke razvijajo le ženske rastline). Zaradi dvodomnosti so hmeljne rastline genetsko zelo različne. Potomstvo rastlin, vzgojenih iz semena, je raznoliko (heterogeno). Da bi se obdržala homogena (genetsko izenačena) populacija, se hmelj v pridelovalnih nasadih razmnožuje vegetativno.

Uspeh križanja je odvisen tudi od kombinacijske vrednosti staršev, ki je boljša, čim večja je njihova genetska variabilnost. Genetsko variabilnost lahko ugotovljamo na osnovi analize variabilnosti določenih kemijskih komponent, uveljavljena pa je tudi že uporaba molekulskih markerjev, ki temeljijo na osnovi analize DNA. Zelene lastnosti križancev dobimo s selekcijo lastnosti starševskih rastlin. S populacijskim pristopom žlahtnjenja hmelja, ko želimo izboljšati več lastnosti bolj ali manj istočasno, se nam število možnih variant hitro povečuje. Genetsko bližino rastlin nam lahko pomaga določati metoda grupiranja. S pomočjo dobljenih dendrogramov se lažje odločamo za nadaljnje korake [1, 5].

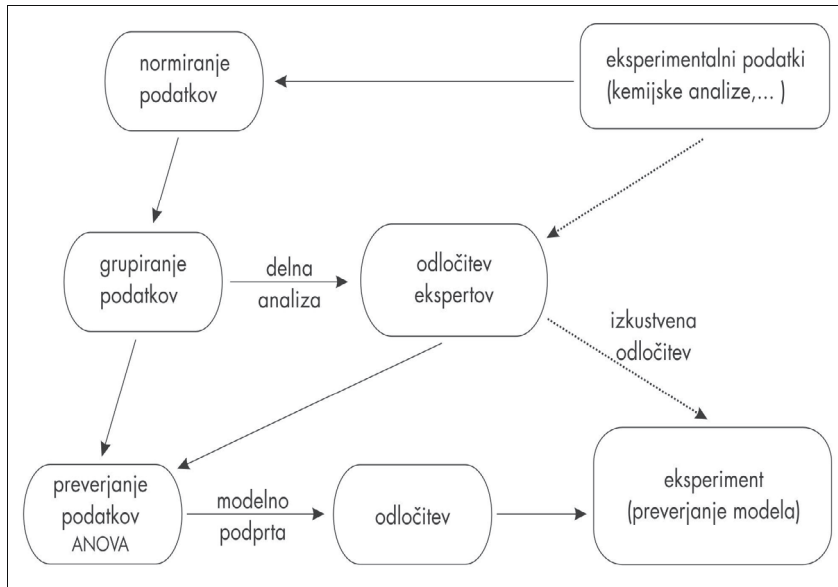
V najširšem pomenu je razvrščanje v skupine (Cluster Analysis) proces abstrakcije poimenovanja skupin objektov, za katere menimo, da so na nek način podobni med seboj. Je eno najosnovnejših opravil vsake raziskave in verjetno tudi najsplošnejša znanstvena metoda, ki je uporabna na vseh področjih. Kot primer naj omenimo Darwinovo razvojno teorijo in razvrstitev kemijskih elementov v periodni zakon, kar sta naredila Mendelejev in Mayer [4].

Na prvem nivoju lahko klasifikacijska shema preprosto predstavlja priročno metodo, s katero lahko organiziramo veliko množico podatkov, da jih lažje razumemo in interpretiramo. Ko podatke ustrezno sumiramo v manjše število skupin objektov, nazivi skupin oblikujejo dovolj natančen opis vzorca podatkov.

Potreba po klasifikaciji podatkov v svetu postaja vse pomembnejša zaradi velikega števila rastočih baz podatkov, ki so na razpolago na vseh področjih znanosti. Na podlagi grupiranja množice podatkov lahko predpostavljamo določene lastnosti in napovedujemo dogodke in dejanja, včasih pa tudi raziskujemo vzroke in postavljamo diagnoze (biologija, kemija, agronomija, genetika...). Kljub matematični teoriji na kateri sloni model, se moramo zavedati, da razvrščanje množice objektov v skupine ni zgolj znanstvena teorija in jo moramo ovrednotiti bolj glede na njeno uporabnost [4, 12].

Poleg klasične metode selekcije superiornih genotipov lahko selekcijo izvajamo tudi s pomočjo matematičnega modela, ki ga je potrebno predhodno pripraviti. Za izgradnjo takega modela je smiselna uporaba skupka numeričnih metod. Preizkusiti ga je mogoče s pomočjo hierarhične metode razvrščanja podatkov, dobljenih na osnovi kemičnih analiz superiornih križancev, v skupine (clustering), ter dvofaktorske analize variance ANOVA (two factor without replication).

Kot pomoč pri odločanju o superiornosti križancev pa se lahko uporabi tudi posebej razvit ekspertni sistem za večparametrsko odločanje DEXi [3, 8].



**Slika 2:** Shema ekspertnega modela za pomoč pri odločanju  
**Figure 2:** Scheme of the expert model for decision making

#### 4 ZAKLJUČEK

V prispevku je prikazana možnost uporabe numeričnih metod pri klasični metodi žlahtnjenja hmelja. Glavni namen preliminarne raziskave je bil v pripravi koncepta za preizkusni ekspertni model ter metodologije kontrole ujemanja odločitev ekspertov s ponujenimi odločitvami ekspertnega sistema. Dokončno razvit sistem bo lahko skrajšal čas in povečal učinkovitost dela, žlahtniteljem pa olajšal delo pri njihovih odločitvah. Delo na razvoju sistema bo potrebno v prihodnjih letih še nadaljevati.

#### 5 LITERATURA

1. Costa, G. I. et al., Comparative analysis of clustering methods for gene expression time course data.- Genet. Mol. Biol., 27(2004)4.
2. Čerenak, A., Jakše, J., Identifikacija Slovenskih sort hmelja z mikrosatelitskimi markerji. Hmeljarski bilten, 12(2005), s. 43-48.
3. Eisen, M.B. et al., Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns.- Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95(1988), s. 14863-14868.



4. Ferligoj, A., Razvrščanje v skupine.- Metodološki zvezki, št. 4, Raziskovalni inštitut FSPN, Ljubljana, 1988, 182 s.
5. Henning, A. J., Townsend, M. S., Field-Based Estimates of Heritability and Genetic Correlations in Hop.- *Crop Sci.* 45(2005), s. 1469-1475.
6. <http://www-ai.ijs.si/MarkoBohanec/org95/index.html> (10. avgust 2007).
7. Javornik, B., Molekularno genetske raziskave hmelja. *Hmeljarski bilten*, 12(2005), s. 71-77.
8. Košmelj, K., Osnove analize kovariance.- *Acta agriculturae slovenica*, 83(2004), s. 341-352.
9. Murakami, A. et al., Molecular phylogeny of wild Hops, *Humulus lupulus L.*- *Heredity* 97(2006), s. 66-74.
10. Pavlovič, M., Aplikacija simulacijskega modela SIMAHOP 3.1 za primerjalne stroškovne analize v kmetijstvu.- *Hmeljarski bilten*, 13(2006), s. 21-31.
11. Rajkovič, V., Bohanec, M., Sistemi za pomoč pri odločanju.- *Organizacija in kadri*, (1988), s. 127-140.
12. Zupan, J., Uporaba računalniških metod v kemiji.- *DZS*, Ljubljana, (1992), 276 s.
13. Žel, J., Gensko spremenjene rastline. *Biološka znanost in družba, Genialna prihodnost: genetika, determinizem in svoboda*, Zbirnik prispevkov posveta, Ljubljana, oktober 2007.



**POJAV GLIVE *PHOMA EXIGUA* NA HMEJLU V SLOVENIJI**Sebastjan RADIŠEK<sup>1</sup>, Jernej JAKŠE<sup>2</sup>, Branka Javornik<sup>3</sup>, J. de GRUYTER<sup>4</sup>

UDK / UDC 633.791:631.527.3:632.3 (045)  
izvirni znanstveni članek / original research article  
prispelo / received: 25.10.2007  
sprejeto / accepted: 07.12.2007

**IZVLEČEK**

V letu 2005 je prišlo na območju hmeljišč Koroške in Podravske regije do izbruha, v Sloveniji še neidentificirane bolezni hmelja, ki je povzročila pegavost listja, odmiranje cvetov in rjavenje storžkov. Na osnovi klasičnih in molekularnih diagnostičnih tehnik je bila kot povzročiteljica bolezenskih znamenj identificirana gliva *Phoma exigua*. V prispevku so predstavljene ocene izgube pridelka v najbolj prizadetih nasadih, diagnostične tehnike identifikacijske analize in osnovne epidemiološke lastnosti povzročiteljice s taksonomijo ter usmeritvami za obvladovanje.

**Ključne besede:** diagnostika, bolezni rastlin, varstvo rastlin

**THE APPEARANCE OF *PHOMA EXIGUA* ON HOP IN SLOVENIA****ABSTRACT**

In the year 2005, an outbreak of unidentified disease on hop in Slovenia, was observed in Koroška and Podravje regions, which induced leaf spots, flower decaying and browning of cones. On the basis of classical and molecular diagnostics techniques, fungus *Phoma exigua* was identified as the causal agent. The article presents crop loss assessments from affected hop gardens, diagnostics techniques used in the identification analysis, basic epidemiology of the fungus with taxonomy and directions for crop protection.

**Key words:** diagnostics, plant diseases, plant protection

---

<sup>1</sup> Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Diagnostični laboratorij, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec; [sebastjan.radisek@ihps.si](mailto:sebastjan.radisek@ihps.si)

<sup>2,3</sup> Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za genetiko, rastlinsko biotehnologijo in žlahtnjenje, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

<sup>4</sup> Plant Protection Service, Wageningen, Nizozemska

## 1 UVOD

Pridelavo hmelja od nekdaj spremlja pojav bolezni in škodljivcev, ki ob neustreznem varstvu lahko popolnoma uničijo pridelok ali celo povzročijo propad rastlin. Med najpomembnejše bolezni hmelja, s katerimi se srečuje večina svetovnih hmeljarskih pridelovalnih območij, štejemo hmeljevo peronosporo (*Pseudoperonospora humuli* Miyabe & Takah. G.W. Wilson), hmeljevo pepelovko (*Podosphaera macularis* Wallr. U. Braun & Takam.), verticilijsko uvelost hmelja (*Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold; *V. dahliae* Klebahn) in bolezni povzročene z virusnimi okužbami. Poleg teh je na hmelju znanih še precej več povzročiteljev bolezni. Tako je do sedaj opisanih 35 različnih glivičnih obolenj, 2 oomiceti, 4 bakterijska obolenja, 12 virusov, 3 viroidi in 1 fitoplazma [2], ki predstavljajo nabor potencialnih povzročiteljev gospodarske škode v hmeljarstvu.

V sredini avgusta leta 2005 je prišlo na območju Koroške v Radljah ob Dravi do močnega pojava, v Sloveniji še neidentificirane bolezni hmelja, ki je povzročila pegavost listja, odmiranje cvetov in storžkov. Bolezen je najprej prizadela spodnji del rastline, napredovala po rastlini navzgor in na koncu zajela celotno hmeljno rastlino. Bolezenska znamenja na listju so se v začetni fazi izrazila v obliki majhnih ovalnih, sivo rjavih peg, ki so se kasneje razvile do velikosti premera 1 do 3 cm. Nekatere od peg so bile omejene z listnimi žilami. Z napredovanjem bolezni so se pege združevale in na najbolj prizadetem listju zajele celotno listno površino. Na mladih poganjkih je prišlo do odmiranja cvetov in razvijajočih storžkov, med katerimi jih je večina imela prizadete tudi peclje. Na storžkih so se pojavile rdečo rjave nekroze, najprej na koncih braktej in brakteol, ki so širile in v nekaterih primerih zajele celotno površino storžkov. Bolezen je bila najintenzivnejša na sortah Merkur, Magnum in Bobek. Pri nadaljnjih opazovanjih hmeljišč smo bolezen zasledili tudi na območju Ptuja, prav tako v nasadih sort Magnum in Merkur.

Opisi podobnih bolezenskih znamenjih na hmelju so znani iz Anglije iz leta 1926, ko je bila kot povzročiteljica identificirana gliva *Ascochyta humuli* Kabat & Bubak [13]. Podoben zapis obstaja tudi iz območja nekdanjih republik Sovjetske zveze [8], vendar je v obeh primerih bolezen prizadela samo listje hmeljnih rastlin in ni prišlo do gospodarske škode na pridelku. Zaradi nenadnega bolezenskega pojava v Sloveniji, ki je poleg listja prizadel tudi storžke in povzročil škodo na pridelku, smo takoj pričeli s postopki identifikacije povzročitelja, saj je le to predpogoj za vse nadaljnje aktivnosti pri varstvu pridelka. V prispevku predstavljamo obseg okužbe v letu 2005, potek identifikacijske analize povzročitelja bolezni, njegove osnovne epidemiološke lastnosti s taksonomijo in usmeritvami za obvladovanje.

## 2 MATERIAL IN METODE

### 2.1 Izolacija in mikroskopska analiza

Izolacijo povzročitelja bolezni smo izvršili iz prizadetega tkiva storžkov in listja, ki smo ga predhodno mikroskopsko pregledali. Pri tem smo v sterilnih pogojih izvedli površinsko sterilizacijo z namakanjem tkiva (1 min) v 2 % raztopini natrijevega hipoklorida (NaOCl). Koščke tkiva smo nato položili v petrijevke s krompirjevim dekstroznim agarjem (PDA-

potato dextrose agar; pH 5.2; 50 mg streptomycin sulfat/l) in inkubirali pri sobni temperaturi v temi. Po 5 dneh smo izolirane kulture mikroskopsko pregledali in z namenom *in vitro* opazovanja precepili na tri različna identifikacijska gojišča OA (oatmeal agar), MA (malt agar) in CA (cherry-decoction agar).

## 2.2 Patogeni testi

Patogene teste smo izvedli z umetnimi okužbami storžkov in listja lateralnih poganjkov, ki smo jih nabrali v nasadih sort Bobek in Merkur. Pri tem smo po dva lateralna poganjka uredili v obliki šopkov v 500 ml erlenmajericah v 4 ponovitvah za vsako sorto. Inokulum smo pripravili s spiranjem kultur reprezentativnega izolata (2PEX). Infekcijski potencial inokula je znašal  $10^6$  CFU/ml. Lateralne poganjke smo inokulirali z ročno razpršilko, pokrili s prozorno PVC vrečko in inkubirali v rastni komori (Kambič, RK-13300) pri 80 % relativni zračni vlagi in pod 12-urno fotoperiodo fluorescentne svetlobe (L 58W/77; Fluora, Osram). Pri tem smo v času osvetlitve temperaturo komore naravnali na 20° C, v temni fazi pa na temperaturo 15° C. Pojav boleznih na lateralnih poganjkih smo ocenili 10 dni po inokulaciji kot delež prizadete površine listja in storžkov s skalo 0-5 (0=brez bolezenskih znamenj, 1= 1-20 %; 2=21-40 %; 3=41-60 %, 4=61-80 %, 5=81-100 %). Prisotnost glive *Phoma exigua* na prizadetem tkivu smo potrdili s svetlobnim mikroskopom in reizolacijo izolata.

## 2.3 Izolacija DNA

Pred izolacijo DNA smo izolate namnožili v tekočem gojišču »General fungal medium« [11]. Kulture smo 4-5 dni inkubirali v temi pri sobni temperaturi na rotacijskem stresalniku (50 vrt./min). Po inkubaciji smo micelij iz gojišča filtrsko odstranili in ga večkrat sprali s sterilno destilirano vodo. Sledila je izolacija DNA po vpeljanem SDS protokolu, ki sta ga razvila Lee in Taylor [6], z nekaterimi modifikacijami [9]. Za izolacijo DNA iz prizadetega rastlinskega tkiva smo uporabili CTAB metodo [5].

## 2.4 Molekularna identifikacija

Molekularno identifikacijo smo opravili z določitvijo nukleotidnega zaporedja ITS (angl. Internal Transcribed Spacer) regij ribosomalnih RNA genov (rRNA). Pri tem smo najprej izvedli PCR (polimerazna verižna reakcija) pomnoževanje ITS1, 5.8S rDNA in ITS2 regij s pomočjo ITS4/ITS5 specifičnih nukleotidov [12]. Reakcijske mešanice (50  $\mu$ l) so vsebovale 1 $\times$  PCR pufer, 0,2 mM vsakega dNTP-ja, 0,5  $\mu$ M vsakega začetnega oligonukleotida, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> in 0,6 enote encima *Taq* DNA polimeraze in 20 ng genomske DNA izolatov. V primeru kontrolne reakcije smo namesto DNA izolatov, uporabili 2  $\mu$ l sterilne vode. Reakcije smo izvajali v PCR napravi DNA Thermal Cycler 480 (Perkin Elmer, Foster City, ZDA), po naslednjem temperaturnem profilu: začetna 4-minutna denaturacija pri 94° C, ki ji sledi 30

ciklov pri 94° C (45 s), 58° C (30 s) in pomnoževanje pri temperaturi 72° C (70 s). Uspešnost PCR pomnoževanja smo preverili z 1,6 % agarozno gelsko elektroforezo. Določitev nukleotidnega zaporedja smo izvedli s pomočjo sekvenčnega servisa (Macrogene, Korea). Nukleotidna zaporedja fragmentov smo primerjali s podatki v GenBank (NCBI) podatkovnih bazah z uporabo skupine programov BLAST [1].

## 2.5 Ocenitev obsega in stopnje okužbe

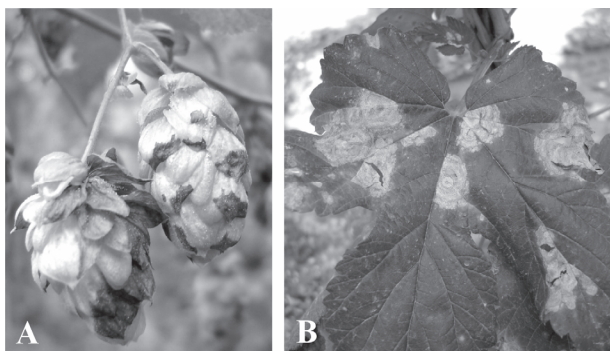
Ocenitev pojava bolezni v prizadetih nasadih smo opravili v času obiranja hmelja. Pri tem smo na končnem traku obiralnega stroja odvzeli vzorce v obsegu približno 4000 storžkov, izmed katerih smo jih za nadaljnjo analizo naključno izbrali 400. Izbrane storžke smo v laboratoriju pregledali s svetlobnim mikroskopom in jih ocenili z ocenjevalno skalo od 0 - 4 (0 = zdravi storžki, 1 = do 1 % okužba, 2 = 1-5 % okužba, 3 = 5-20 %, 4 = nad 20 % okužba). Stopnjo okužbe smo izračunali po formuli Townsend-Heuberger.

## 3 REZULTATI IN DISKUSIJA

### 3.1 Morfološka identifikacija

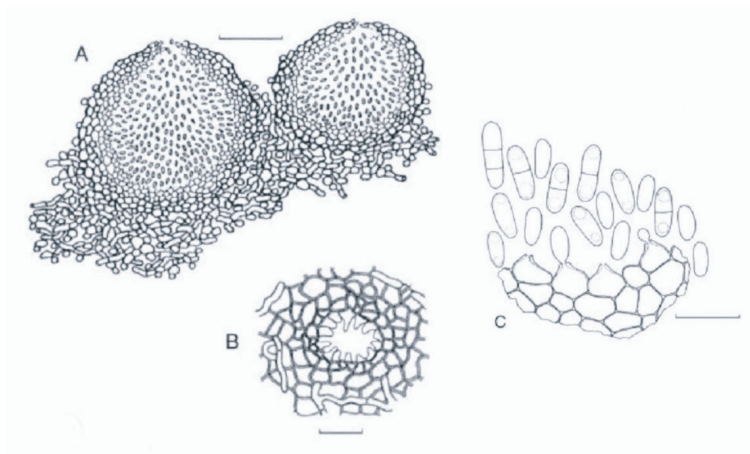
Mikroskopski pregled prizadetega tkiva listov in storžkov (Slika 1) je razkril prisotnost piknidijev okrogle oblike velikosti 80–200 µm z jasnimi ustjem skozi katerega so množično izhajali konidiji. Ti so bili večinoma ne-septirani, velikosti 6.5 (4.5-8) × 2.5 (2-4) µm, hialini in elipsoidne oblike. Z metodo površinske sterilizacije smo iz prizadetega tkiva na PDA gojišču izolirali 10 izolatov (oznaka IPEX-10PEX), ki smo jih nadalje precepili na tri različna identifikacijska gojišča OA (oatmeal agar), MA (malt agar) in CA (cherry-decoction agar).

Na vseh gojiščih se je razvil puhast micelij sivo-olivne barve, pri čemer je bila kultura nepravilne oblike. Razvoj piknidijev smo po 10-20 dneh opazili na vseh gojiščih, vendar so bili ti zelo redki in deloma pogreznjeni v agar. V primeru OA gojišča smo opazili rahlo hitrejšo rast micelija. Specifičen test z natrijevim hidroksidom (NaOH) je pokazal negativno reakcijo, kar uvršča te izolate v skupino E-. Na osnovi morfoloških lastnosti (Slika 2) smo kot povzročitelja bolezni identificirali glivo iz rodu *Phoma* spp. Z namenom potrditve ugotovitev smo identifikacijo nadaljevali v sodelovanju z mikološkim oddelkom službe zdravstvenega varstva rastlin na Nizozemskem (Plant Protection Service, Mycological Department, Wageningen), kjer so v poslanih vzorcih na osnovi morfoloških lastnosti [3] identificirali glivo *Phoma exigua* Desm.



Slika 1: Bolezenska znamenja hmelja ob okužbi z glivo *Phoma exigua*. A: rjavenje storžkov; B: pege na listju.

Figure 1: Disease symptoms on hop caused by *Phoma exigua*: A: brown lesions on hop cones; B: lesions on leaves.



Slika 2: Morfološke lastnosti glive *Phoma exigua* var. *exigua* [10]. A: Prečni prerez dveh piknidijev; B: Tlorisni pogled na ustje piknidija; C: konidiogene celice in konidiji.

Figure 2: Morphological characteristics of *Phoma exigua* [10]. A: Vertical section of two pycnidia; B: Superficial view of an ostiolum; C: conidiogenous cells and conidia.

### 3.2 Patogeni testi

Z namenom potrditve Kochovih postulatov smo izvedli testiranje patogenosti reprezentativnega izolata 2PEX. Pri tem smo umetno okužili lateralne poganjke hmelja sort Bobek in Merkur, ki sta se izkazali za občutljivi. Prva bolezenska znamenja so se razvila 6 dni po inokulaciji. Na listih so se razvile sivo-rjave ovalne pege, ki so se vsakodnevno koncentrično večale. Na storžkih smo opazili rjavenje braktej in brakteol, ki se je pričelo na koncih in napredovalo proti osnovi storžka. Z mikroskopskim pregledom smo potrdili prisotnost piknidijev glive *Phoma exigua*, ki smo jih reizolirali na krompirjevo gojišče. Reizoliran izolat smo nadalje analizirali z molekularno analizo.

Preglednica 1: Rezultati patogenega testiranja izolata 2PEX glive *Phoma exigua*.

Table 1: Results of pathogenicity testing of 2PEX isolate of *Phoma exigua*.

Sorta	Povprečna okužba šopka <sup>a</sup>					Reizolacija
	1	2	3	4	K <sup>b</sup>	
Bobek	1,5	2	2,5	1,5	0	+
Merkur	2	1,5	2	2	0	+

<sup>a</sup>Ocenjeno 10 dni po inokulaciji (Skala 0-5).

<sup>b</sup>Neokužen šopek lateralnih poganjkov hmelja.

### 3.3 Molekularna identifikacija

Določanje nukleotidnega zaporedja (sekvenciranje) ITS regij ribosomalnih RNA genov in njihova primerjava med različnimi vrstami gliv predstavlja najpogostejše študije proučevanja filogenetskih odnosov in identifikacije posameznih glivnih izolatov. V naši diagnostični analizi smo sekvencirali ITS1, 5.8S rDNA in ITS2 regije dvema reprezentativnima izolatom 2PEX in 3PEX, reizoliranem izolatu 2PEX, ter referenčnem izolatu glive *Phoma exigua* var. *exigua* (CBS 431.74), ki smo ga pridobili iz mikološke zbirke The Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS) - an Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences (KNAW). Pri vseh treh izolatih smo dobili enako 523 bp dolgo sekvenco, ki je bila identična (E=0.0) že vpisanim sekvencam glive *Phoma exigua* v podatkovni bazi GenBank [1].

Tako smo tudi z molekularno analizo potrdili rezultate morfološke identifikacije, da je povzročitelj pegavosti listja in rjavenja storžkov gliva *Phoma exigua*. Kot referenco našim analizam smo v podatkovno GenBank vpisali sekvenco za izolata 2PEX in CBS 431.74 pod aksesijskima številcama EF136399 in EF136400.



### 3.5 Ocenitev obsega in stopnje okužbe

Po prvem odkritju izbruha bolezni v Radljah ob Dravi smo opravili preglede in vzorčenja v ostalih hmeljarskih območjih Slovenije in pri tem odkrili bolezen tudi v nasadih na območju Ptuja. Pojav bolezni v prizadetih nasadih je zajel večji del nadzemnega dela rastline (liste, cvetove in storžke), vendar smo se pri ocenjevanju pojava osredotočili na storžke, predvsem z namenom določitve škode pridelka. Pojav na listih in cvetovih je slikovno dokumentiran in dostopen pri prvem avtorju prispevka. Škodo pridelka smo določili z vzorčenjem storžkov na končnem traku obiralnega stroja. Pri tem smo določili delež prizadetih storžkov in indeks stopnje okužbe, ki ga lahko upoštevamo kot indikator dejanskega uničenja pridelka. V preglednici 2 so zbrani rezultati ocenjevanja storžkov.

Preglednica 2: Rezultati ocenjevanja pojava glive *Phoma exigua* na storžkih glede na sorto in območje v letu 2005.

Table 2: Results of appearance assessment of *Phoma exigua* on hop cones, regarding variety and hop production area in the year 2005.

Območje	Sorta	Delež obolelih storžkov	Indeks obolenja <sup>a</sup>
Radlje ob Dravi	Bobek	30 %	11%
	Merkur	35 %	14 %
	Magnum	29 %	9 %
Ptuj	Magnum	19%	8%
	Merkur	Prisotna	Prisotna

<sup>a</sup>Townsend-Heuberger indeks obolenja

### 3.6 Taksonomija in nomenklatura rodu *Phoma*

Na osnovi morfoloških lastnosti in gostiteljev so se glive, ki tvorijo piknidije največkrat uvrščale v rodove *Phoma*, *Phyllosticta* in *Ascochyta*, vendar je ta klasifikacija bila vedno precej nejasna s številnimi spremljajočimi sinonimi pri vseh treh rodovih. V zadnjih štirih desetletjih se je naredil velik napredek predvsem pri taksonomiji rodu *Phoma*, ki je sedaj na osnovi *in vitro* in *in vivo* morfoloških lastnosti razdeljen na sekcije *Phoma*, *Phyllostictiodes*, *Heterospora*, *Peyronellaea*, *Macrophoma*, *Pilosa*, *Plenodomus*, *Sclerophomella* in *Paraphoma* [3]. Gliva *Phoma exigua* je uvrščena v sekcijo *Phyllostictioides*, pri čemer je nadalje opisanih kar 11 varietet te vrste [10]. Pri glivi *P. exigua* še niso potrdili spolnega cikla, vendar veliko vrst v tej sekciji predstavlja anamorfe vrst iz rodu *Didymella*. Taksonomsko je rod *Phoma* uvrščen v nedefinirano skupino *Incertae sedis*, red *Pleosporales*, podrazred *Pleosporomycetidae*, razred *Dothideomycetes* in skupino *Ascomycota* [4].

### 3.7 Razvojni krog glive *Phoma exigua*

Gliva *Phoma exigua* spada med fakultativne organizme, saj lahko nastopa kot rastlinski patogen (nekrotrof) ali pa kot saprofit na odmrlih rastlinskih ostankih. S svojimi 11 varietetami predstavlja kompleks različnih odnosov med njenimi gostitelji. Tako lahko povzroča obsežen spekter bolezenskih znamenj kot je npr. padavica, gnitje korenin, pegavost listja in različne nekroze rastlinskega tkiva. Po koncu vegetacije preživi v tleh v obliki dormantnega micelija ali v obliki piknidijev, ki so se razvili na okuženem rastlinskem tkivu. Z začetkom vegetacije v spomladanskih mesecih iz trajnega micelija poženejo nove hife, ki inficirajo rastline ali pa nadaljujejo kolonizacijo odmrlih rastlinskih ostankov. Podobno tudi piknidiji z bruhanjem spor, ki se širijo predvsem z dežjem, predstavljajo začetek novega infekcijskega cikla. Prve infekcije se pri nekaterih rastlinah pojavijo, ko se temperature dvignejo nad 10° C in so pogojene predvsem visoko relativno vlago in dežjem. Na koloniziranem tkivu se razvijejo novi piknidiji, ki so z bruhanjem konidijev vir novih okužb. Razvoj piknidijev je lahko zelo hiter, saj se lahko razvijejo v 3 dneh pri temperaturi 26° C [7], kar omogoča tej glivi ob ugodnih razmerah hiter nastanek novih infekcij in kolonizacijo rastlin.

### 3.8 Možnosti obvladovanja glive *Phoma exigua* v hmeljarstvu

Na osnovi epidemioloških lastnosti in izkušenj obvladovanja na ostalih gojenih rastlinah, kjer glive iz rodu *Phoma* povzročajo vsakoletne izgube pridelka, lahko postavimo nekaj usmeritev za obvladovanje glive *P. exigua* v hmeljarstvu. Hmelj je trajnica, ki jo v kmetijstvu izkoriščamo tudi do 20 let na isti površini. To daje nekaterim povzročiteljem bolezni, kot je gliva *P. exigua* dobre pogoje za dviganje infekcijskega potenciala. Zato kot prvo usmeritev obvladovanja lahko postavimo odsvetovanje vračanja hmeljevine po obiranju pridelka v hmeljišča. Če to ni mogoče, je priporočljivo hmeljevino naprej obdelati s kompostiranjem, kjer ob razgradnji svežih ostankov rastlin prihaja do segrevanja mase in posledično odmrta rastlinskih patogenov. Za pravilno kompostiranje, hmeljevino uredimo v kup višine 2 m, katerega nato prekrijemo za dobo najmanj 2 mesecev s PVC folijo, da zagotovimo segrevanje tudi na površini kupa, hkrati pa preprečimo raznašanje z vetrom. Poleg sanitarnih ukrepov in žlahtnjenja odpornih sort je ob izbruhu nujno tudi varstvo rastlin z uporabo fungicidov. Pri tem je znanih precej aktivnih snovi, ki so učinkovite za zatiranje gliv iz rodu *Phoma*, od katerih lahko omenimo azoksistrobin, difenokonozol, tebukonazol, metkonazol in karbendazim. Seveda nam te lahko predstavljajo le usmeritev pri določitvi najprimernejših za zatiranje glive *P. exigua* v hmeljarstvu. Tako bo v prihodnje potrebno, posebno ob ponavljajočih izbruhih, *in vitro* in *in vivo* določiti učinkovitost in primernost fungicidov, ugotoviti pragove škodljivosti in proučiti možnosti napovedovanja izbruhov te bolezni.

## 4 ZAKLJUČEK

V zadnjem stoletju se je seznam povzročiteljev bolezni na hmelju redno povečeval predvsem preko razvoja diagnostičnih metod, stalnega prilagaja parazitov na nove gostitelje, razvoja

hmeljarstva kot trajne monokulture in klimatskih sprememb. Znanih je tudi kar nekaj pomembnih izbruhov in epifitocij, ki so pomembno vplivale na spremembe pri pridelavi hmelja. V letu 2005 nas je v Sloveniji presenetil agresiven izbruh do sedaj še neidentificirane bolezni na hmelju. Na osnovi klasičnih in molekularnih diagnostičnih tehnik smo kot povzročitelja identificirali glivo *Phoma exigua*, ki je tipičen predstavnik rastlinskih polifagov. V prizadetih hmeljiščih smo ocenili obseg okužbe in v prispevku predstavili osnovne lastnosti te glive ter usmeritve pri razvoju strategij varstva pridelka.

## ZAHVALA

Avtorji članka se zahvaljujemo mag. Milanu Žolnirju za koristne informacije pri delu in pomoč pri spremljanju ter ugotavljanju razširjenosti pojava glive *Phoma exigua* v hmeljiščih.

## 5 VIRI

1. Altschul, S. F., Madden, T. L., Schaffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D. J., Gapped. BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs.- *Nucleic Acids Research* 25(1997), s. 3389-3402.
2. APS, <http://www.apsnet.org/online/common/comment/hop.asp> (19.10.2007).
3. Boerema, G.H., de Gruyter, J., Noordeloos, M. E., Hamers, M. E. C. *Phoma Identification Manual* (2004).- Wallingford, UK: CABI Publishing.
4. Index Fungorum, <http://www.speciesfungorum.org/Names/Names.asp> (19.10. 2007).
5. Kump, B., Javornik, B., Evaluation of genetic variability among common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) populations by RAPD markers.- *Plant Science*, 114(1996), s. 149-159.
6. Lee, S.B., Taylor, J.W., Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. V: *PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications*. Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, D.H., White, J.J., Eds. T.J. (ur).- San Diego, Academic Press, (1990), s. 282-287.
7. McCoy, R. E., Horst, R. K., Dimock, A. W. Environmental factors regulating sexual and asexual regulation by *Mycosphaerella ligulicola*.- *Phytopathology* 62(1972) s. 1188-1195.
8. Pidopličko, N.M, Gripi paraziti kulturnih rastenij.- *Opridelitelj* 3(1978), Kijev, strana 102, s. 153-145.
9. Radišek, S., Jakše, J., Javornik, B., Optimisation of amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis of hop wilt (*Verticillium albo-atrum* and *Verticillium dahliae*).- *Zbornik Biotehniške fakultete, Kmetijstvo*, 77(2001)2, s. 139-146.
10. Van der AA, H.A., Boerema, G.H., de Gruyter J. Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes).- VI-1, *Sectoin Phyllostictoides: Characteristics and nomenclature of its type species Phoma exigua*. *Personia* 3(2000), s. 435-456.
11. Weising, K., Nybom, H., Wolff, K., Meyer, K. *Fingerprinting in Plants and Fungi*.- London, CRC Press, Inc., (1995), s. 322.

12. White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J.W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics.- V: *PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications*. Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, D.H., White, J.J., Eds. T.J. (ur). San Diego, Academic Press, (1990), s. 282-287.
13. Wormald, H.- E. Malling Research Station, Annual Report for 1926-27, II Suppl. (1928).

**UGOTAVLJANJE PREFERENCE HROŠČEV HMELJEVEGA BOLHAČA  
(*Psylliodes attenuatus* Koch) V HMELJIŠČU, NA RAZLIČNIH SORTAH HMELJA**

Magda RAK CIZEJ<sup>1</sup>, Lea MILEVOJ<sup>2</sup>, Damijana KASTELEC<sup>3</sup>

UDK / UDC 632.768:633.791 (045)

izvirni znanstveni članek / original research article

prispelo / received: 12.11.2007

sprejeto / accepted: 03.12.2007

**IZVLEČEK**

Hmeljev bolhač (*Psylliodes attenuatus* Koch) je polifag, ki se prehranjuje na navadnem hmelju (*Humulus lupulus* L.), navadni konoplji (*Cannabis sativa* L. ssp. *sativa* var. *sativa*) in veliki kopriivi (*Urtica dioica* L.). Ima različno preferenco do gostiteljskih rastlin in sicer se najraje prehranjuje na hmelju. V hmeljišču SN10 Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije v Žalcu, kjer je posajenih 11 različnih sort hmelja, smo v letih 2003, 2004 in 2005 ugotavljali preferenco hroščev hmeljevega bolhača do različnih sort hmelja. Preferenco smo ugotavljali z ulovom hroščev na rumene lepljive plošče, na 4 različnih višinah (50, 100, 150 in 200 cm od tal). Ugotovili smo, da se je največ bolhačev v vseh treh letih ulovilo na višini 50 cm od tal. S statističnim linearnim mešanim modelom, ki je vključeval ulov hroščev hmeljevega bolhača na višini 50 cm od tal v 5 dneh, smo ugotovili statistično značilno največjo preferenco bolhačev do sorte Magnum in Celeia, najmanjšo pa do sorte Buket.

**Ključne besede:** hmelj, *Humulus lupulus*, hmeljev bolhač, *Psylliodes attenuatus*, rumene lepljive plošče, preferenca, sorte hmelja

**ASSESSMENT PREFERENCE OF HOP FLEA BEETLE (*Psylliodes attenuatus* Koch)  
IN HOP GARDEN ON DIFFERENT HOP CULTIVARS**

**ABSTRACT**

The hop flea beetle (*Psylliodes attenuatus* Koch) is polyphagous. It feed on three different plants; on hop (*Humulus lupulus* L.), hemp (*Cannabis sativa* L. ssp. *sativa* var. *sativa*) and stinging nettle (*Urtica dioica* L.). The hop flea beetle does not accept all host plants to the same degree. The hop flea beetle the most prefer hop. In 2003, 2004 and 2005 we used yellow sticky traps at 4 different heights (50, 100, 150 and 200 cm above the ground) to determine hop flea beetle preference to the above mentioned hop cultivars in the hop garden owned by the Slovenian Institute for Hop Research and Brewing in Žalec where 11 different hop cultivars are planted. It was found that all three years most hop flea beetles got trapped at the height of 50 cm. With the help of a statistical linear mixed model which included trapped hop flea beetle at the height of 50 cm in five days, it was found that hop flea beetles statistically significantly preferred Magnum and Celeia hop cultivars, but the preference to Buket was the smallest.

**Key words:** hop, *Humulus lupulus*, hop flea beetle, *Psylliodes attenuatus*, yellow sticky traps, preference, hop cultivars

<sup>1</sup> Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec; [magda.rak-cizej@ihps.si](mailto:magda.rak-cizej@ihps.si)

<sup>2</sup> Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitopatologijo in entomologijo

<sup>3</sup> Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za statistiko

## 1 UVOD

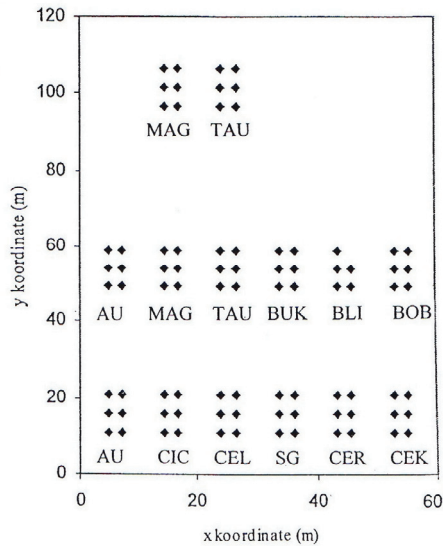
Hmeljev bolhač (*Psylliodes attenuatus* Koch) je pomemben škodljivec hmelja (*Humulus lupulus* L.), ki pa se prehranjuje tudi na navadni konoplji (*Cannabis sativa* L. ssp. *sativa* var. *sativa*) in veliki koprivi (*Urtica dioica* L.) [1, 6]. Hrošči hmeljevega bolhača imajo različno preferenco do gostiteljskih rastlin. Najraje se prehranjujejo s hmeljem, sledi velika kopriva, najmanj se prehranjujejo z navadno konopljo. Imajo različno preferenco tudi do različnih sort hmelja [4]. Razlika v kakovosti hrane, ki jo uživajo, ni odvisna samo od ravni primarnih rastlinskih metabolitov, temveč tudi od količine in narave sekundarnih metabolitov. Sekundarni metaboliti delujejo podobno kot toksini, odvrčala oziroma zaviralci prebavljivosti. Herbivori najprej pri gostiteljskih rastlinah preverijo nivo hranil, fizikalne značilnosti rastlin in morebitno zastopanost kakšnega naravnega sovražnika (karnivora) [7]. Na kakovost in količino kemičnih snovi v rastlini pomembno vplivata tudi genotip rastline ter okolje. Okolje vpliva na količino sekundarnih metabolitov v rastlini, ti pa posledično na škodljive organizme [8]. Očitno je, da okus in vonj nekaterih sekundarnih metabolitov stimulirata prehranjevanje fitofagnih žuželk in s tem določata izbiro gostiteljske rastline ter njihovo vedenje [9].

## 2 MATERIAL IN METODE

Hrošče hmeljevega bolhača smo od konca aprila do konca meseca avgusta, v letih 2003 do 2005, spremljali v hmeljišču SN<sub>10</sub> Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) v Žalcu. V hmeljišču je bilo posajenih 11 sort hmelja, ki so vpisane v slovensko sortno listo. Te sorte so: Aurora, Blisk, Bobek, Buket, Cekin, Celeia, Cerera, Cicero, Magnum, Savinjski golding in Taurus. Njihova razporeditev v hmeljišču, ki meri 0,72 ha, je prikazana na sliki 1. Hmeljišče SN<sub>10</sub> leži na obrečnih, srednje globokih rjavih tleh. Tla so srednje težka.

V hmeljišču je bila v času spremljanja hmeljevega bolhača pri vseh sortah enaka agrotehnika (kultiviranje, obsanje, dognojevanje, namakanje), različen je bil le čas rezi. V začetku aprila (do 5. aprila) je bila opravljena rez pri sorti Aurora, Blisk, Bobek, Buket, Cekin, Celeia, Cerera in Cicero, na Savinjskem goldingu 10. aprila, po 10. aprilu pa na sorti Magnum in Taurus.

V omenjenem hmeljišču SN<sub>10</sub> sorte Aurora, Magnum in Taurus zavzemajo večjo površino kot ostale sorte. Znotraj navedenih sort smo postavili 12 opazovalnih mest, pri ostalih sortah 6, samo pri sorti Blisk smo imeli 5 opazovalnih mest. Na vsakem opazovanem mestu smo postavili 3 metre visoko bambusovo palico. V vsako smo zvrtili 4 luknje v razmaku 50 cm (na višinah 50, 100, 150 in 200 cm od tal). Skozi luknje smo pritrdili oziroma obesili rumene lepljive plošče velikosti 12 x 17 cm s katerimi smo spremljali pojavljanja bolhačev. Plošče na vseh višinah smo menjali na 10 do 14 dni. Hmeljevega bolhača smo z lepljivimi ploščami spremljali do konca meseca avgusta. V laboratoriju smo plošče pregledali s pomočjo stereomikroskopa pri 25-kratni povečavi. Na ploščah smo z obeh strani prešteli hrošče hmeljevega bolhača.



**Slika 1:** Razpored opazovalnih mest za spremljanje hmeljevega bolhača (*Psylliodes attenuatus*) v hmeljišču SN<sub>10</sub> na IHPS Žalec, pri različnih sortah hmelja

Oznake: AU = Aurora, BLI = Blisk, BOB = Bobek, BUK = Buket, CEK = Cekin, CEL = Celeia, CER = Cerera, CIC = Cicero, MAG = Magnum, SG = Savinjski golding, TAU = Taurus

**Figure 1:** Disposition plan of observation places for hop flea beetle (*Psylliodes attenuatus*) in SN<sub>10</sub> hop garden on IHPS Žalec, at different hop cultivars

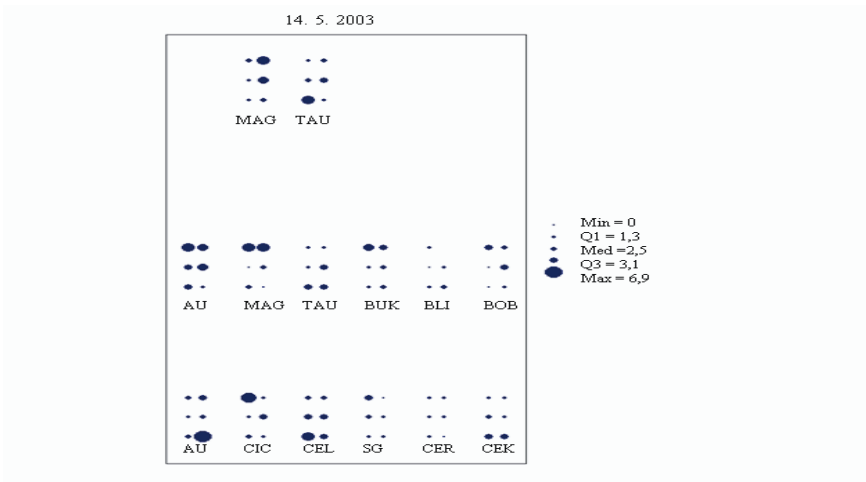
Marks: AU = Aurora, BLI = Blisk, BOB = Bobek, BUK = Buket, CEK = Cekin, CEL = Celeia, CER = Cerera, CIC = Cicero, MAG = Magnum, SG = Savinjski Golding, TAU = Taurus

### 3 REZULTATI IN DISKUSIJA

Podatke o številu ulovljenih hroščev hmeljevega bolhača smo primerjali med vsemi tremi leti. Kljub različnim terminom menjave plošč, smo bolhače na ploščah za vsak termin preračunali v število ulovljenih bolhačev na ploščo na 5 dni. Največ bolhačev se je na rumene lepljive plošče ulovilo v letu 2003, ko je bilo zelo toplo z malo padavin, najmanj pa v letu 2004. Največ hroščev hmeljevega bolhača se je v vseh treh letih spremljanja pri vseh sortah hmelja ulovilo na višini 50 cm, nato na višini 100 cm, najmanj pa na višini 150 in 200 cm od tal. Značilnost hroščev hmeljevega bolhača je, da v sončnem in toplen vremenu intenzivno izjedajo mlade liste, pozneje tudi storžke [5]. Ob mraku, ko je bolj hladno, se zadržujejo pri tleh ali na spodnji strani spodnjih listov, kjer imajo svoja 'dnevna skrivališča'. V toplen vremenu postanejo ponovno aktivni. Bolhači tako vsak dan zapuščajo svoja 'dnevna skrivališča', zato je velika verjetnost, da se jih več ulovi na ploščah, ki so nameščene na spodnjih višinah hmelja. Tudi v različnih terminih se je ulovilo različno število bolhačev. V splošnem se je spomladi največ bolhačev ulovilo v drugi in tretji dekadici meseca maja. Vrh

ulova poletne generacije hroščev hmeljevega bolhača je bil v tretji dekadi julija in prvi dekadi meseca avgusta.

Pojav prezimljenih hroščev hmeljevega bolhača v letu 2003 je bil v drugi dekadi meseca aprila. Največji pojav spomladanske generacije je bil sredi meseca maja (slika 2). Značilen za leto 2003 je bil izrazito močan pojav poletne generacije hroščev hmeljevega bolhača, ki je dosegla vrh v drugi dekadi meseca julija (slika 3).



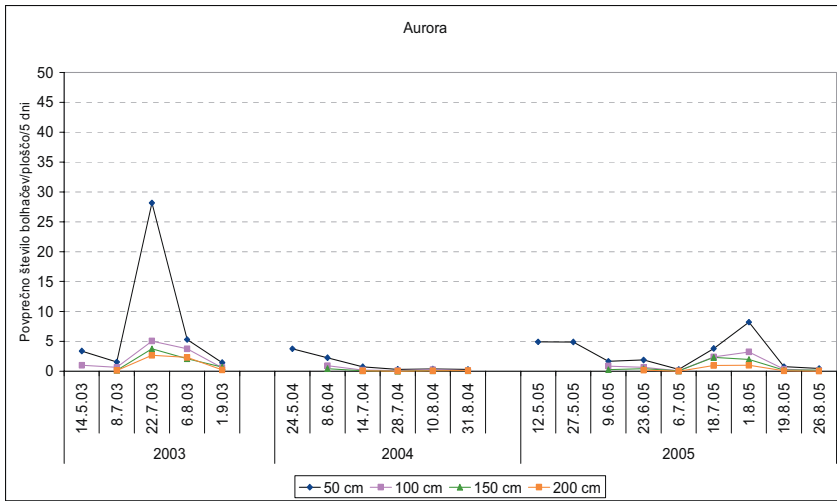
**Slika 2:** Prostorska porazdelitev povprečnega števila ulovljenih hroščev hmeljevega bolhača (*Psylliodes attenuatus*) na ploščo v 5 dneh, v hmeljišču SN<sub>10</sub>, na dan 14. maj 2003, ko je bil vrh spomladanske generacije

**Figure 2:** Spatial division of average number of trapped hop flea beetles (*Psylliodes attenuatus*) in 5 days in SN<sub>10</sub> hop garden on 14<sup>th</sup> May 2003 at the height of spring generation

Pojav hroščev hmeljevega bolhača spomladi leta 2004 je bil kasnejši kot v letu 2003 in sicer šele v začetku meseca maja. Vrh spomladanske generacije je bil 24. maja (slika 3). V primerjavi z letom 2003 se je v letu 2004 pri spomladanski generaciji ulovilo več hroščev hmeljevega bolhača. Pri poletni generaciji, ki je dosegla vrh v prvi dekadi meseca avgusta, se je ulovilo bistveno manj hroščev kot v letu 2003 (slika 3).

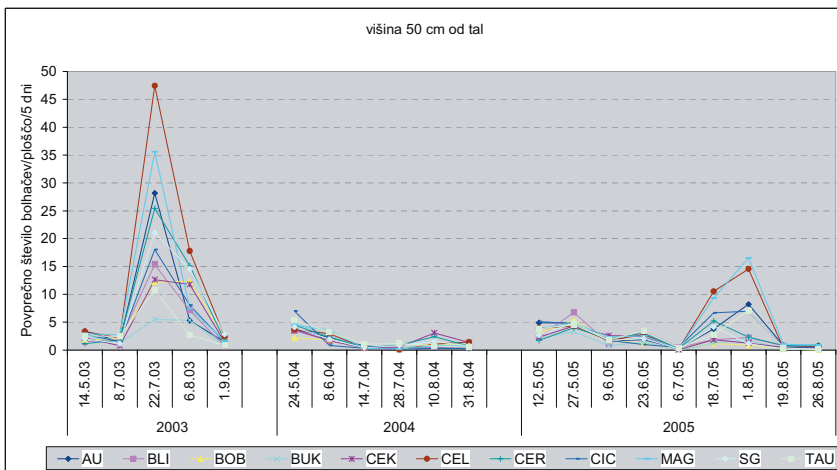
Prezimljeni hrošči hmeljevega bolhača so se v letu 2005 pojavili v večjem številu kot spomladi leta 2003. Največ hroščev spomladanske generacije se je ulovilo v tretji dekadi meseca maja. Poletni pojav hroščev je dosegel vrh prve dni meseca avgusta, njihovo število pa je bilo manjše kot v letu 2003 (slika 3).





**Slika 3:** Povprečno število ulovljenih hroščev hmeljevega bolhača (*Psylliodes attenuatus*) na ploščo v 5 dneh pri sorti Aurora, na različnih višinah in pri različnih terminih opazovanj

**Figure 3:** Average number of trapped hop flea beetles (*Psylliodes attenuatus*) in 5 days at Aurora hop cultivar, at different heights and times of observation



**Slika 4:** Povprečno število ulovljenih hroščev hmeljevega bolhača (*Psylliodes attenuatus*) na ploščo v 5 dneh pri različnih sortah hmelja na višini 50 cm od tal

**Figure 4:** Average number of trapped hop flea beetles (*Psylliodes attenuatus*) on yellow sticky trap in 5 days at different hop cultivars at the height of 50 cm above the ground

V vseh treh letih opazovanj se je največ hroščev hmeljevega bolhača v vseh terminih spremljanja in pri vseh sortah hmelja ulovilo na višini 50 cm od tal (slika 3). Na sliki 4 prikazujemo razlike v povprečnem številu ulovljenih hroščev hmeljevega bolhača na ploščo v 5 dneh, na višini 50 cm od tal, pri različnih sortah hmelja. Največ hroščev hmeljevega bolhača se je v letu 2003 in 2005 ulovilo pri sorti Celeia in Magnum, najmanj pa pri sorti Buket.

Z linearnim mešanim modelom (angl. Linear mixed model) za statistično primerjavo vpliva različnih sort hmelja na *in vivo* preferenco prehranjevanja hroščev hmeljevega bolhača na višini 50 cm od tal v letih 2003, 2004 in 2005 smo ugotovili, da obstajajo statistično značilne razlike med sortami hmelja. V preglednici 1 je prikazano povprečno število ulovljenih hroščev z označenimi statistično značilnimi razlikami v povprečnem številu ujetih hroščev hmeljevega bolhača na eno ploščo v petih dneh.

**Preglednica 1:** Razlike v povprečnem številu ulovljenih hroščev hmeljevega bolhača (*Psylliodes attenuatus*) na ploščo v 5 dneh, v hmeljišču SN<sub>10</sub> v Žalcu, v letih 2003, 2004 in 2005

**Figure 1:** The differences in the average number of trapped hop flea beetles (*Psylliodes attenuatus*) yellow on sticky trap in 5 days in hop garden SN<sub>10</sub> in Žalec, in years 2003, 2004 and 2005

Sorta		BUK	BOB	BLI	CEK	TAU	SG	CIC	AU	CER	MAG	CEL
	povprečje	1,58	1,95	2,04	2,17	2,34	2,47	2,58	2,60	2,78	3,49	3,98
BUK	1,58							*	*	*	***	***
BOB	1,95										**	***
BLI	2,04										**	***
CEK	2,17										**	***
TAU	2,34										*	**
SG	2,47										*	**
CIC	2,58											*
AU	2,60											**
CER	2,78											*
MAG	3,49											
CEL	3,98											

Oznake: AU = Aurora, BLI = Blisk, BOB = Bobek, BUK = Buket, CEK = Cekin, CEL = Celeia, CER = Cerera, CIC = Cicero, MAG = Magnum, SG = Savinjski golding, TAU = Taurus

\* $P \leq 0,05$  statistično značilen vpliv; \*\* $P \leq 0,01$  statistično visok značilen vpliv; \*\*\* $P \leq 0,001$  statistično zelo visok značilen vpliv

Hrošči hmeljevega bolhača so imeli v hmeljišču statistično značilno zelo veliko preferenco do sorte Magnum in Celeia ( $p \leq 0,001$ ). Med slednjima ni bilo značilnih razlik. Pri sorti Celeia se je statistično značilno ulovilo več hroščev hmeljevega bolhača kot pri sorti Aurora ( $p \leq 0,01$ ). Med Taurusom in Savinjskim goldingom ni bilo statistično značilnih razlik pri ulovu hroščev hmeljevega bolhača na ploščo v 5 dneh. V omenjenem hmeljišču se je izkazalo, v primerjavi s sortami Celeia in Magnum, da so imeli hrošči hmeljevega bolhača statistično značilno najmanj radi sorti Buket in Bobek ( $p \leq 0,001$ ) (preglednica 1).

V hmeljišču je na preferenco hroščev hmeljevega bolhača poleg različnih sort hmelja vplivalo še mnogo drugih dejavnikov med katerimi je eden od najbolj verjetnih različna mikroklima pri posameznih sortah. Pri predhodnih raziskavah smo ugotovili, da rob hmeljišča ne vpliva

na povečan ulov bolhačev. Tako hrošči hmeljevega bolhača niso številni le ob robu hmeljišč, temveč tudi v notranjosti [2].

Sorte, pri katerih smo spremljali hrošče hmeljevega bolhača, nimajo enakih lastnosti, predvsem mislimo na njihovo zgodnost. Če pogledamo samo najbolj gospodarsko pomembne sorte hmelja, najprej tehnološko dozori sorta hmelja Savinjski golding, sledijo Aurora, Magnum, Taurus, Bobek in Celeia. Sorto Savinjski golding, ki je zgodna sorta, spomladi režemo pozno in sicer po 10. aprilu. Pri Savinjskem goldingu včasih ta čas sovpada s pojavom prvih hroščev hmeljevega bolhača. Prezimljeni hrošči se na omenjeni sorti ne morejo prehranjevati, ker še ni vznikla, zato se prehranjujejo na sortah Aurora, Bobek, Celeia, na katerih rez opravimo prve dni v aprilu in imajo v času pojava bolhačev že posamezna stebela z mladimi, sočnimi listi, ki bolhačem zelo ustrezajo.

Sorto Magnum režemo po 15. aprilu in njegova višina 15-20 cm ravno sovpada z vrhom pojava bolhačev spomladanske generacije. Hrošči hmeljevega bolhača se zelo radi prehranjujejo na mladih, komaj vzniklih rastlinah hmelja. Sorto Savinjski golding režemo pozno, vendar zgodaj obiramo in sicer sredi meseca avgusta. Po spravi sort Savinjski golding in Aurora, se hrošči hmeljevega bolhača prehranjujejo na poznih sortah hmelja kot so Magnum, Taurus in Celeia. Ker hrošči prezimijo v tleh v bližini svojih gostiteljskih rastlin, jih naslednje leto spomladi največ zasledimo ravno pri omenjenih sortah.

#### 4 ZAKLJUČKI

- Največ hroščev hmeljevega bolhača, ki smo jih tri leta spremljali z rumenimi lepljivimi ploščami v hmeljišču na IHPS Žalec, se je ulovilo v letu 2003, najmanj pa v letu 2004. V letu 2003 se je ulovilo 6,4-krat več hroščev hmeljevega bolhača kot v letu 2004, v letu 2005 pa 1,9-krat manj kot v letu 2003 in 3,3-krat več kot v letu 2004.
- Največ hroščev hmeljevega bolhača se je v vseh letih spremljanja ulovilo na višini 50 cm od tal.
- V letu 2003 in 2005 je spomladanska generacija hmeljevega bolhača dosegla vrh sredi maja, v letu 2004 en teden kasneje. Prav tako je bil vrh poletne generacije v letu 2004 pozneje (prve dni avgusta). Običajno je vrh poletne generacije v tretji dekadi julija, tako kot je bilo v letu 2003 in 2005.
- Hrošči hmeljevega bolhača so imeli v hmeljišču (*in vivo*) statistično značilno različno preferenco do različnih sort hmelja.
- Najmanj hroščev hmeljevega bolhača se je v hmeljišču ulovilo pri sorti Buket, največ pri sorti Celeia.
- Hrošči hmeljevega bolhača so v hmeljišču imeli statistično značilno zelo veliko preferenco do sorte Celeia in Magnum.
- Bolhači so imeli na sorti Aurora, v primerjavi s sorto Celeia, statistično značilno manjšo preferenco, medtem ko med ostalimi sortami, ki so bile posajene v hmeljišču, ni imela statistično značilnih razlik.

- Med ekonomsko pomembnimi sortami hmelja so se hrošči hmeljevega bolhača najraje prehranjevali na sorti Celeia, sledili so Magnum, Aurora in Savinjski golding. Najmanj so se prehranjevali na sorti Taurus in Bobek.
- Z rezultati spremljanja hroščev hmeljevega bolhača v hmeljišču SN<sub>10</sub> v Žalcu se je izkazalo, da so se bolhači s hmeljem sorte Aurora, katere delež pridelave v Sloveniji predstavlja več kot 60 %, zmerno prehranjevali.

## 5 VIRI

1. Heikertinger, F., Resultaten fünfzenjähriger Untersuchungen über die Nahrungpflanzen einheimischer Halticinae.- Monographie der paläarktischen Halticinen.- Biologischer Teil: Ersters Stück. Entomologische Blätter, 1925, 21: s. 83-84.
2. Rak Cizej, M., Bionomija hmeljevega bolhača *Psylliodes attenuatus* Koch (Coleoptera: Chrysomelidae) v Sloveniji. Magistrsko delo. Ljubljana, 2003, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 105 s.
3. Rak Cizej, M., Milevoj, L., Spremljanje hmeljevega bolhača (*Psylliodes attenuatus* Koch) z barvnimi lepljivimi ploščami.- Zbornik predavanj in referatov 7. posvetovanja o varstvu rastlin. 7. slovensko posvetovanje o varstvu rastlin. Zreče, 8-10 mar. 2005. Maček J. (ur.). Maribor, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, s. 333-341.
4. Rak Cizej, M., Milevoj, L., *In vitro* ugotavljanje preference hroščev hmeljevega bolhača (*Psylliodes attenuatus* Koch) na gospodarsko pomembnih sortah hmelja, na navadni konoplji ter veliki koprivi.- Hmeljarski bilten / Hop bulletin, 13(2006), s. 13-20.
5. Rak Cizej, M., Žolnir, M., Hmeljev bolhač (*Psylliodes attenuatus* Koch) vse pogostejši škodljivec hmelja v Sloveniji.- Zbornik predavanj in referatov 6. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin. Zreče, 4.-6. marec 2003. Maček J. (ur.). Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, s. 233-238.
6. Rak, M., Preučevanje bolhačev (Halticinae, Coleoptera) na območju Savinjske doline.- Diplomski naloga. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 1998, 91 s.
7. Rosenthal, G. A., Berenbaum M. R., Herbivores, their interactions with secondary plants metabolites.- The chemical participants. New York, Academic Press, 1991, 352 s.
8. Speight, M. R., Hunter, M. D., Watt, A. D., Ecology of Insects. Concepts and applications.- London, Blackwell Science, 1999, 350 s.
9. Visser, J. H., Host odor perception in phytophagous insects.- Annals of the Entomological Society of America, 31(1986), s. 121-144.

**VPLIV GNOJENJA HMELJA Z DUŠIKOM NA VSEBNOST NITRATA V PIVU**Dušica MAJER<sup>1</sup>, Majda VIRANT<sup>2</sup>

UDK / UDC 631.879:633.48 (045)  
izvirni znanstveni članek / original scientific article  
prispelo / received: 24.10. 2007  
sprejeto / accepted: 28.12.2007

**IZVLEČEK**

Slovenski hmeljarji so vse bolj orientirani na ekološko uravnoteženo pridelavo hmelja in vzpostavitev sistema naključne analize kritičnih kontrolnih točk v postopku pridelave hmelja. Pomembna komponenta pri ugotavljanju kritičnih točk za pivo je tudi kontrola prehrane hmeljnih rastlin z dušikom in ugotavljanje odražanja različnih odmerkov dušikovih gnojil na kakovost piva kot končnem produktu. Vsebnost nitrata v hmeljnih storžkih je lahko precej različna glede na različno količino dodanega dušikovega gnojila, posledično pa se odraža tudi v večji ali manjši vsebnosti nitrata v pivu.

**Ključne besede:** *Humulus lupulus*, dušik, gnojenje, nitrat, pivo

**INFLUENCE OF NITROGEN FERTILIZATION OF HOPS ON A NITRATE CONTENT IN BEER****ABSTRACT**

Slovene hop growers are more and more focused on ecologically balanced production of hop and on the restoration of the system of hazard analysis and critical control points. Very important component of finding the critical control points for beer is also the control of plant nutrition with nitrogen and investigating the reflect of different quantities of nitrogen fertilizers in the quality of beer as the final product. The contents of nitrate in hop cones can be very different considering different quantities of added nitrogen fertilizer and the result is bigger or smaller content of nitrate in beer.

**Key words:** *Humulus lupulus*, nitrogen, fertilization, nitrate, beer

---

<sup>1</sup> Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Celovška 135, 1000 Ljubljana, Slovenija; [ducica.majer@kgzs.si](mailto:ducica.majer@kgzs.si)

<sup>2</sup> Agrohop d.o.o., Gotovlje 31, 3310 Žalec, Slovenija

## 1 UVOD

Na kakovost pridelka močno vpliva tudi prehrana rastline, predvsem gnojenje z dušikom [4, 5]. Gnojenje preko potreb rastline vodi do presežkov dušika v rastlini in do akumulacije nitrata v njenih delih. Nekatere raziskave govorijo o precejšnji škodljivosti nitrata za človeški organizem. Primarna toksičnost nitrata je sicer relativno nizka, vendar se nitrati preko nitrata pretvarjajo v nitrozamine, ki so dokazano karcinogeni [7, 13]. Zaradi tega se možnostim za zmanjšanje vsebnosti nitrata v uporabnih delih rastlin posveča vse več pozornosti [2, 15].

Hmelj je rastlina, ki potrebuje za uspešno rast razmeroma veliko količino dušika, znan pa je tudi kot rastlina, ki lahko akumulira večje količine nitrata. Na vsebnost nitrata v storžkih hmelja lahko med drugim precej vplivamo tudi z optimalno izvedbo gnojenja z dušikom, kar pomeni ustrezno količino in obliko gnojila ter čas in način aplikacije gnojila [12]. Po dosedanjih raziskavah se namreč prekomerna količina nitrata v storžkih odraža tudi v povečani vsebnosti nitrata v pivu, kjer pa naj ne bi bila višja, kot je dovoljena količina v pitni vodi [6, 10, 11, 14].

## 2 MATERIAL IN METODE

Raziskava je bila opravljena na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije v Žalcu. V poskus s kultivarjema Savinjski golding in Aurora smo vključili obravnavanja: 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 in 600 kg dušika/ha letno v dveh ponovitvah. Dušik v obliki KAN-a smo dodajali v treh enakih obrokih v zadnji dekadji maja, sredi junija in v prvi dekadji julija. Vsi ostali agrotehnični ukrepi so bili standardni.

V hmeljnih storžkih smo v obdobju tehnološke zrelosti določili vsebnost vode po gravimetrični metodi, alfa kislin po konduktometrični metodi [1] in nitrata s HPLC metodo [3].

Za pripravo piva smo uporabili sladico iz industrijske proizvodnje z 12% ekstrakta. V sladici smo predhodno opravili analizo na vsebnost nitrata s tekočinsko kromatografijo (HPLC) z UV-VIS detektorjem pri valovni dolžini 205 nm [9]. Sladico smo hmeljili s hmeljnimi storžki iz različnih obravnavanj. Hmeljenje (kuhanje sladice) je trajalo 90 minut. Odmerek hmelja, ki smo ga razdelili na tri enake obroke (začetek kuhanja, po 45 minutah kuhanja in 15 minut pred koncem kuhanja), je bil izračunan na dodatek 100 mg alfa kislin na liter sladice za vse poskuse. Izračunali smo ga po enačbi 1 [8]:

$$\text{odmerek hmelja (kg/hl)} = \frac{\text{pivina(hl)} \times 100\text{mg/l alfa kislin}}{\% \text{ alfa kislin v zračno suhem hmelju}} \quad [\text{en. 1}]$$

V pivini smo opravili analizo na vsebnost nitrata po enaki metodi kot v sladici. Dejanski vnos nitrata s hmeljem v pivino pa smo izračunali po enačbi 2 [8]:

$$\text{dejanski vnos (mg/l)} = \text{skupna vsebnost nitrata v pivini} - \text{vsebnost nitrata v razredčeni sladici} \quad [\text{en. 2}]$$

Vrenje pивine je potekalo sedem dni po postopku klasičnega odprtega spodnjega vrenja. Pivo je nato zorelo še štirinajst dni. V pivu smo opravili analizo na vsebnost nitrata in po enačbi 3 izračunali dejanski vnos nitrata (po enaki metodi in izračunu kot za pivino) in predviden vnos nitrata s hmeljem [8]:

$$\text{predviden vnos (mg/l)} = \text{dodatek hmelja (kg/hl)} \times \text{vsebnost nitrata v hmelju (\%)} \times 100 \quad [\text{en. 3}]$$

### 3 REZULTATI

V okviru raziskave smo ugotavljali ali storžki z gnojjenih površin vsebujejo značilno več nitrata v primerjavi s storžki z negojjenih površin oziroma kako z večanjem gnojilnega odmerka dušika vplivamo na vsebnost nitrata v hmeljnih storžkih. Poleg tega pa smo ugotavljali tudi kolikšna je vsebnost nitrata v pivu, kadar uporabljamo za pivo storžke z gnojjenih površin v primerjavi s postopkom, ko uporabimo za pivo storžke z negojjenih površin ter kako se večanje gnojilnega odmerka dušika odraža na vsebnosti nitrata v pivu.

#### 3.1 Vpliv gnojenja z dušikom na vsebnost nitrata v hmeljnih storžkih

Tako pri Aurori kot pri Savinjskem goldingu ugotavljamo, da vsebnost nitrata v storžkih bolj ali manj enakomerno narašča z večanjem odmerka dušika. Redke izjeme, ki se pojavljajo, so verjetno posledica precejšnje dinamike nitratne komponente v hmeljnih storžkih v obdobju zrelosti oziroma obiranja. Pri obeh kultivarjih lahko s 95-odstotno verjetnostjo trdimo, da vsebujejo storžki z obravnavanj, ki so gnojena z večjim odmerkom dušika, statistično značilno več nitrata ( $F_{\text{tab.}} = 2,79$ ;  $F_{\text{izr.}}(\text{Sav.golding}) = 54,58$ ,  $F_{\text{izr.}}(\text{Aurora}) = 14,58$ ), z večanjem odmerka dušika nad 250 kg/ha pa se večji odmerek manj značilno odraža na večji vsebnosti nitrata v storžkih.

Storžki Savinjskega goldinga z negojjenih obravnavanj so vsebovali povprečno le 76 mg nitrata/100 g suhih storžkov, pri odmerku 150 kg dušika/ha so storžki vsebovali 1185 mg nitrata/100 g suhih storžkov, pri odmerku 600 kg dušika/ha pa 1428 mg nitrata/100 g suhih storžkov (preglednica 1).

Storžki Aurore z negojjenih obravnavanj so vsebovali povprečno 491 mg nitrata/100 g suhih storžkov, pri odmerku 150 kg dušika/ha so storžki vsebovali 1219 mg nitrata/100 g suhih storžkov, pri odmerku 600 kg dušika/ha pa 1728 mg nitrata/100 g suhih storžkov (preglednica 2).

#### 3.2 Vpliv gnojenja z dušikom na vsebnost nitrata v pivu

Na vsebnost nitrata v pivu vpliva vsebnost nitrata v vseh sestavinah piva (voda, slad, hmelj), zato so tu povezave med odmerkom dodanega dušika hmelju in vsebnostjo nitrata v pivu, zaradi majhnih količin hmelja v pivu, precej manj izrazite in težje določljive. V sladici,

hmeljani s storžki Aurore, je bilo le od 0,085 do 0,098 kg hmeljnih storžkov/hl piva, v sladici, hmeljeni s storžki Savinjskega goldinga pa od 0,208 do 0,303 kg hmeljnih storžkov/hl piva.

Dejanski vnos nitrata v pivo s hmeljnimi storžki je pri obeh kultivarjih bistveno nižji takrat, ko za pivo uporabimo storžke z negojenih parcel in predstavlja 17,6 mg/l piva v primeru Savinjskega goldinga (preglednica 1) oziroma 6,7 mg/l piva v primeru Aurore (preglednica 2). Kadar uporabimo storžke Savinjskega goldinga s parcel, ki smo jih gnojili s 150 kg dušika/ha, je dejanski vnos nitrata s storžki v pivo 31,2 mg/l piva, pri odmerku 600 kg dušika/ha pa 40,8 mg/l piva (preglednica 1). V primeru, da uporabimo storžke Aurore, je dejanski vnos nitrata s storžki s parcel, ki smo jih gnojili s 150 kg dušika/ha le 13,5 mg/l piva, pri odmerku 600 kg dušika/ha pa 18,1 mg/l piva (preglednica 2). Vpliv nitrata iz hmeljnih storžkov na vsebnost nitrata v pivu in dejanski vnos nitrata v pivo je iz storžkov Savinjskega goldinga večji v primerjavi z Auroro. To je posledica dejstva, da moramo zaradi nižje vsebnosti alfa kislin v storžkih Savinjskega goldinga, dodati v postopku, ko uporabimo storžke tega kultivarja, več hmeljnih storžkov v primerjavi s postopkom, ko uporabimo za hmeljenje storžke Aurore.

Različni gnojilni odmerki in različne vsebnosti nitrata v storžkih pa se ne odražajo vedno v sorazmernem povečevanju vsebnosti nitrata v pivu oziroma v sorazmernem povečevanju dejanskega vnosa nitrata s storžki v pivo. Pri Savinjskem goldingu so razlike v povečanju vsebnosti nitrata v pivu glede na večanje gnojilnega odmerka manj značilne ( $F_{\text{tab.}}=2,79$ ;  $F_{\text{izr.}}(\text{Sav.golding})=3,75$ ) kot pri Aurori ( $F_{\text{tab.}}=2,79$ ;  $F_{\text{izr.}}(\text{Aurora})=13,45$ ). Pri Savinjskem goldingu najbolj odstopajo od omenjene trditve obravnavanja 50, 100, 300 in 400, pri Aurori pa izrazito odstopajo obravnavanja 250, 300, 400 in 450. Tako npr. ugotovimo pri kultivarju Aurora pri obravnavanju 400 kar 1892 mg nitrata/100 g suhih storžkov, vendar le 6,0 mg/l piva oziroma le 4,2 mg/l piva, če upoštevamo dejanski vnos nitrata s storžki.

**Preglednica 1:** Vsebnost nitrata v hmeljnih storžkih, sladici, pivini in pivu v odvisnosti od gnojilnega odmerka dušika pri kultivarju Savinjski golding

**Table 1:** Tenor of nitrate in hop cones, wort, hopping wort and beer in relation to fertilizing portion of nitrogen for the cultivar Savinjski golding

Odmerek dušika [kg/ha]	Nitrat v storžkih [mg/100 g]	Nitrat v sladici [mg/l]	Nitrat v pivini [mg/l]	Dejanski vnos v pivino [mg/l]	Nitrat v pivu [mg/l]	Dejanski vnos v pivo [mg/l]	Predvidena vsebnost nitrata v pivu [mg/l]
0	76	3,0	22,1	19,1	20,6	17,6	1,8
50	883	4,9	30,0	25,2	33,4	28,6	19,0
100	1153	3,3	38,9	35,6	26,0	22,7	26,2
150	1185	6,7	43,0	36,3	37,9	31,2	31,2
200	1302	4,3	45,4	41,1	38,8	34,5	31,4
250	1351	6,3	44,6	38,3	37,7	32,8	32,6
300	1321	4,9	42,4	37,5	47,5	42,6	34,7
350	1374	4,3	46,2	41,9	44,4	40,1	33,8
400	1419	3,3	53,6	50,3	38,7	35,4	35,4
450	1414	6,3	45,0	38,7	43,0	36,7	35,4
500	1467	3,0	46,9	43,9	47,9	44,9	39,6
600	1428	6,7	48,5	41,8	47,5	40,8	40,1



**Preglednica 2:** Vsebnost nitrata v hmeljnih storžkih, sladici, pivini in pivu v odvisnosti od gnojilnega odmerka dušika pri kultivarju Aurora

**Table 2:** Tenor of nitrate in hop cones, wort, hopping wort and beer in relation to fertilizing portion of nitrogen for the cultivar Aurora

Odmerek dušika [kg/ha]	Nitrat v storžkih [mg/100 g]	Nitrat v sladici [mg/l]	Nitrat v pivini [mg/l]	Dejanski vnos v pivino [mg/l]	Nitrat v pivu [mg/l]	Dejanski vnos v pivo [mg/l]	Predvidena vsebnost nitrata v pivu [mg/l]
0	491	4,5	10,4	5,9	11,2	6,7	4,2
50	802	4,8	14,2	9,4	14,6	9,8	6,8
100	1171	5,1	17,7	12,6	19,8	14,7	10,3
150	1219	4,6	19,8	15,2	18,1	13,5	11,7
200	1552	4,8	22,7	17,9	19,7	14,9	14,2
250	1376	3,9	16,5	12,6	7,6	3,7	12,3
300	1543	3,9	17,9	14,0	12,9	9,0	15,9
350	1544	1,5	16,5	15,0	12,1	10,6	13,8
400	1892	1,8	17,2	15,4	6,0	4,2	17,6
450	1699	1,4	16,4	15,0	8,5	7,1	15,6
500	1572	< 1,0	17,6	16,6	16,1	12,8	14,8
600	1728	3,9	17,8	13,9	19,1	18,1	15,8

Najmanj je glede doprinosu nitrata v pivo problematičen slad, saj so odmerki dušika pri gnojenju pivovarskega ječmena omejeni zaradi možnosti prevelike vsebnosti beljakovin v zrnju pri večjih odmerkih. Analizirana in ustrezno nadzorovana glede vsebnosti nitrata je tudi tehnološka voda, ki se uporablja za pripravo sladice. Slabše nadzorovana komponenta v pivu pa je hmelj, ki ga mnogi pridelovalci gnojijo z dušikom preko priporočenih odmerkov.

Glede na to je hmelj v pivu kljub majhnim odmerkom, ki se dodajajo v postopku hmeljenja, lahko tvegana komponenta. Pomembna ugotovitev raziskave pa je, da tudi v primeru, ko za hmeljenje uporabimo storžke s parcel, ki smo jih gnojili s 600 kg dušika/ha letno, vsebnost nitrata v pivu ne preseže dovoljene maksimalne vsebnosti 50 mg/l piva, seveda le v primeru, da sta tako slad kot tehnološka voda ustrezne kakovosti glede vsebnosti nitrata.

#### 4 SKLEPI

Z raziskavo smo želeli ugotoviti, kako vpliva gnojenje z dušikom na vsebnost nitrata v hmeljnih storžkih in pivu. Za hmeljenje smo uporabljali storžke kultivarjev Savinjski golding in Aurora.

Storžki z negnojenih parcel vsebujejo bistveno manj nitrata kot storžki z gnojenih obravnavanj. Vsebnost nitrata v storžkih bolj ali manj enakomerno narašča z večanjem odmerka dušika. Razlike so statistično značilne.

Vpliv gnojenja z dušikom na vsebnost nitrata v pivu je težje ovrednotiti. Dejanski vnos nitrata v pivo s hmeljnimi storžki je pri hmeljenju s storžki z negnojenih parcel v primerjavi z

gnojnemi nižji, in sicer pri Savinjskem goldingu v povprečju za 50%, pri Aurori pa za 38 %. V večini obravnavanj se z večjim odmerkom dušika povečuje tudi vsebnost nitrata v pivu, vendar tudi v primeru, ko za hmeljenje uporabimo storžke s parcel, ki smo jih gnojili s 600 kg dušika/ha letno, vsebnost nitrata v pivu ne preseže dovoljene maksimalne vsebnosti 50 mg/l piva. Različni odmerki dušika in različne vsebnosti nitrata v storžkih so se značilneje odrazili v vsebnosti nitrata v pivu oziroma v sorazmernem povečevanju dejanskega vnosa nitrata s storžki v pivo pri Aurori.

## 5 LITERATURA

1. Analytica – EBC.- European Brewery Convention. Fourth edition, 1987, s. E 107, E 113-114.
2. Cerutti, G., Pegoraro, R., The Fate of Nitrate from Raw Materials to Beer.- European Brewery Convention Monograph XIV Symposium on Water in the Brewing Industry, Zoeterwoude, 1888, s. 114-122.
3. Donhauser, S., Geiger, E., Glas, K., Ionenpaarchromatographischer Nachweis von Nitrat und weiteren anorganischen Anionen.- Monatsschrift für Brauwissenschaft, (1989)9, s. 352-354.
4. Foster, A., Zur Nitratdosage durch Hopfen und Hopfenprodukte.- Brauwelt (1988)6, s. 188-190.
5. Geiger, E., Beer from ecological and from conventional raw materials.- Brauwelt Internationa IV, 1996, s. 318-324.
6. Gmelch, F., Maier, J., Nitrate in beer - a problem caused by hops?.- Brauwelt international, (1990)1, s. 47-50.
7. Haynes, R.J., Mineral Nitrogen in the Plant-Soil System.- Physiological Ecology, A Series of Monographs, Texts and Treatises, Orlando, 1986, 481 s.
8. Hops and Hops Product, (Manual of Good Practice).- EBC, Technology and Engineering Forum - Nuernberg: Carl, Hans, Getraenke-Fachverlag, 1997, 3.1.6., s 15.
9. Kač, M., Šeliga Reberčnik, A., Report of Biotechnical Faculty of the University of Ljubljana, vol.67, 1996, s. 107-113.
10. Maier, J., Qualitätsfrage bei Hopfen.- Hopfen-Rundschau, 40(1989)5, s. 398-403.
11. Maier, J., Qualitätsfrage bei Hopfen.- Hopfen-Rundschau, 40(1989)23, s. 422-423.
12. Majer, D., Dinamika dušika v tleh in rastlini ob različnem gnojenju in vpliv na pridelek hmelja (*Humulus lupulus* L.) cv. Aurora v Savinjski dolini.- Magistrsko delo, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana, 1994, 108 s.
13. Müller, E., Danek-Jezik, K., Klaghofer, E., Nitratfibel für den Gemüsebau.- Bundesministerium für Land und Forstwirtschaft, Wien, 1989, 24 s.
14. Postel, W., Nitratbestimmung und Nitratgehalt in Bier und Brauereirohstoffen.- Brauwissenschaft, 29(1976)2, s. 39-44.
15. Schur, F., Nitrat bei der Beirherstellung.- Brauerei-Rundschau (1988)5, s. 89-112.

## EXPRESSION OF DISEASE SYMPTOMS ON DIFFERENT APPLE CULTIVARS INFECTED WITH APPLE PROLIFERATION PHYTOPLASMA

Mario LEŠNIK<sup>1</sup>, Maja RAVNIKAR<sup>2</sup>, Jernej BRZIN<sup>2</sup>, Nataša MEHLE<sup>2</sup>, Nataša PETROVIČ<sup>2</sup>,  
Stanislav TOJNKO<sup>1</sup>, Mojca LEŠNIK<sup>3</sup>

UDK / UDC 634.10:631537:632.2./3:632.911(042.2)  
izvirni znanstveni članek / original research article  
prispelo / received: 25.10.2007  
sprejeto / accepted: 03.12.2007

### ABSTRACT

An expression of Apple proliferation (AP) symptoms in the infected young apple trees of 7 cultivars was studied. Two types of symptoms were observed in infected trees; AP specific (changes in size and number of leaf stipules and witches-broom formation) and non-specific symptoms (changes in leaf size, shape and colour, formation of rosettes and stunting of shoots). The percentage of infected trees that expressed one or more AP-specific symptom was 18.9-75.5% in one-year old trees, 39.4-87% in two-year, and 44.8-89.7% in three-year old trees. The expression of non-specific symptoms was similar (43.2-65.3% in one-year, 57.6-85.2% in two-year and 62.1-87.5% in three-year old trees).

**Key words:** Apple proliferation phytoplasma, apple, disease symptom expression

## IZRAŽANJE BOLEZENSKIH ZNAMENJ PRI JABLANAH RAZLIČNIH SORT OKUŽENIH Z APPLE PROLIFERATION FITOPLAZMO

### IZVLEČEK

Pri mladih drevesih 7 sort jablan smo preučevali pogostost pojavljanja specifičnih (spremembe velikosti in števila prilistichev, oblikovanje metličavih poganjkov) in nespecifičnih znamenj bolezni (spremembe v velikosti, obliki in barvi listov, oblikovanje listnih rozet in pojav zakrnelih poganjkov) po okužbi s fitoplazmo Apple proliferation (AP) s cepiči ali očesi ob cepljenju. Odstotek okuženih dreves, kjer so se pojavila specifična znamenja je pri enoletnih rastlinah različnih sort znašal 18,9-75,5 %, pri dvoletnih 39,4-87 % in pri triletnih 44,8-89,7 %. Nespecifična znamenja okužbe so se pojavila v približno enakem obsegu; pri 43,2-65,3 % enoletnih, 57,6-85,2 % dvoletnih in 62,1-87,5 % triletnih dreves.

**Ključne besede:** metličavost jablan, apple proliferation fitoplazma, jablana, izražanje bolezenskih znamenj

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture Maribor, Department of Plant Protection, Maribor University, 30, Vrbanska, 2000 Maribor, Slovenia; [mario.lesnik@uni-mb.si](mailto:mario.lesnik@uni-mb.si)

<sup>2</sup> Department of Plant Physiology and Biotechnology, National institute of Biology, 111, Večna pot, 1000 Ljubljana, Slovenia

<sup>3</sup> Phytosanitary Inspection Service Maribor, Inspectorate for Agriculture, Forestry and Food of Republic Slovenia, 34, Vodovodna, 2000 Maribor, Slovenia

## 1 INTRODUCTION

Apple proliferation (AP) caused by the AP phytoplasma which was recently assigned as 'Candidatus phytoplasma mali' [24] is one of the most damaging diseases of apple trees in Europe. In recent years studies of potential AP vectors showed that two psyllids (*Cacopsylla melanoneura* and *C. costalis* (= *C. picta*) are the main vectors of AP in apple plantations and contribute significantly to the spread of the disease [26]. The main strategies deployed for management of this disease are the control of insect vectors and the production of phytoplasma-free propagation and planting material [14, 22, 26]. Further progress has been made in AP phytoplasma detection methods [3, 5, 15, 7] thus improving the performance of certification schemes. However, the control measures are only partially efficient in the areas where the disease is widespread and insect vectors are present in large populations what was reported for several regions of Europe [9].

Especially in newly established plantations in apple growing areas with high disease occurrence, an early detection of infected trees and their removal is almost equally important as intensive vector control. The authors of several studies of AP phytoplasma pattern of AP symptom expression in apple trees agree that symptom expression is very variable and that many apple cultivars do not show the typical symptoms (changes in size and number of leaf stipules and witches-broom formation) in the first years of tree development [10, 11, 12, 18, 19, 20, 21, 22, 25]. In addition, it has been assumed that many apple trees are latently infected and disease symptoms become visible only as a result of special weather conditions or significant changes in the production practices [2]. Notably, there are no more recent reports on AP disease symptom expression in young apple trees of different cultivars, which could serve for early detection of infected apple trees in new plantations. The main objective of this study was to collect new data on the expression of specific and also non-specific AP symptoms in the young (1-3 years) apple trees, including differences among different cultivars.

## 2 MATERIAL AND METHODS

### 2.1 Experimental design and conditions

An experimental plantation was established to study the expression of AP disease symptoms in one-, two- and three-year old apple trees. Non-infected (AP-free) and AP infected mother trees were selected as sources of scions and buds for producing of non-infected and infected apple stocks. The term **stock** used in this paper applies to one-, two- or three-year old apple trees obtained by grafting or budding the rootstocks with scions or buds (**grafted stocks, budded stocks, respectively**). All series of non-infected and infected stocks were obtained by the same techniques and were maintained for three years in the experimental plantation under an insect proof screen (4.5 m high construction). Inside greenhouse stocks were planted according to randomised block system. There were 8 blocks, each containing healthy and infected plants of all 7 studied cultivars. Systemic insecticides and fungicides were applied at least six times a year to further prevent any vector transmission and to control fungal diseases. Stocks were fertilized and irrigated according to standard production technology. According to the soil analysis all important micro and macro nutrients were present at optimum level, and the soil pH was at 6.3. In order to avoid interference of chemicals and wounding with AP

symptom expression, no herbicides, hormones or bioregulators were applied and no pruning or tip cutting was performed for branch induction. The applied pesticides exerted no phytotoxic effects which could simulate AP symptoms, as shown by the group of control plants which had not been treated with any pesticide. The presence of AP symptoms was recorded in detail throughout the entire growing season. Laboratory tests for the presence of AP phytoplasma were performed in October each year.

## **2.2 Mother trees and rootstocks**

Experimental mother trees of seven apple cultivars were selected as sources of scions and buds. The apple cultivars studied were: Jonagold, Golden Delicious, Braeburn, Elstar, Gala, Fuji and Idared. For each cultivar, two healthy trees and two AP phytoplasma naturally infected trees were selected and labelled in 1999 at the apple plantation in the Experimental Station of the Faculty of Agriculture Maribor, Slovenia (43° 34' N, 15° 38' E). Altogether, 14 healthy mother trees and 14 infected trees were selected. Laboratory analyses (see 2.4 for details) were performed several times prior to and during the experiment to verify the status of selected experimental trees. Selected mother trees were seven to twelve years old and showed typical AP symptoms in some parts of the crown, while the other parts were free of symptoms. For the production of AP-free stocks, the scions were taken from healthy trees grown in the same orchard. The scions and buds were grafted and budded, respectively, onto one year old virus-free certified EMLA M9 rootstocks (health status also proven by laboratory tests).

## **2.3 The manner of obtaining scion and bud wood, and propagation techniques**

Apple stocks were produced continuously during 2000-2005. The scions and buds from diseased and healthy trees were always collected at the same time and in the same manner. Scions or buds were collected twice a year from shoots. During every propagation period in every experimental year 56 stocks (7 cultivars x 2 trees x 4 scions or buds from different positions per tree) were derived from both AP phytoplasma free and infected mother trees. The scions for dormant grafting (bench grafting) were taken in the first week of February. They were kept in cold storage at 4° C for a week before manual whip-and-tongue grafting to healthy EMLA M9 virus-free rootstocks. Grafted dormant rootstocks with well formed roots were planted in plastic containers with a sterilised substrate (Neuhaus Humin Substrat N8). They were allowed to develop for one month in containers in an insect-proof greenhouse at 15° C, and were transferred to the experimental insect-proof screenhouse nursery in the last week of March. Scions burst in the middle of April and sprout developed into a top of new trees by the fall.

Chip budding was performed in the first week of August each year. For budding, dormant and well rooted EMLA M9 virus-free rootstocks were planted in the experimental screenhouse in the first week of April each year. Shoots with buds for chip budding were taken from mother trees two to three days before budding, and were kept in a cold storage. Buds were inserted and tied with grafting bands. They remained inactive until the following spring. Budded rootstocks were cut back above inserted buds just when the growth started in the spring of the following year. New top developed from the inserted bud.

#### 2.4 Laboratory detection of AP phytoplasma

Stocks were sampled for detection of the AP phytoplasma in the years 2001-2005, each year between the end of September to the end of October. The time for sampling was chosen based on the reports showing that the AP phytoplasma populations in sieve tubes of shoots and leaves reaches the highest level during this time of the year [15, 18]. From each stock, two to three shoots with a minimum of 8 well developed leaves per shoot were taken. If stocks showed any kind of apple proliferation symptoms, the symptomatic shoots were chosen for sampling. If stocks did not show any symptoms, the first terminal shoot and one or two lateral shoots were sampled. Grafted and budded stocks were always tested at the same time. All stocks were tested by ELISA without regard to the AP symptoms expression. All plants that showed symptoms of AP infection and were ELISA negative were additionally tested by PCR. In addition, some plants not showing any symptoms, bud tested ELISA positive, were tested by PCR to confirm the results. Plants which were not confirmed AP positive in the first year were re-tested in the second and third year of development.

The laboratory testing was performed as described by Brzin et al. [5]. 0.5 g of fresh leaf midrib tissue was cut into small pieces and homogenized in 5 ml of ice cold ELISA extraction buffer (20 mM Tris, 137 mM NaCl, 2 % polyvinylpyrrolidone-24, 0.05 % Tween 20, 2.68 mM KCl: pH 7.4) in homogenization bags (U-form, Bioreba Switzerland) using a Homex homogenizer (Bioreba). The ELISA extract was used in ELISA and PCR testing. 1 ml of the ELISA extract was centrifuged at 10.000 g for 10 min at 4°C and DNA was extracted from the resulting pellet for further PCR by method described by Ahrens and Seemüller [1]. For specific detection of AP phytoplasma by ELISA, monoclonal antibodies [15] and their enzyme conjugates were applied as recommended by the manufacturer (Bioreba AG, Switzerland). The absorbance at 405 nm ( $A_{405}$ ) after 20, 60 and 120 min was measured using a Dynatech MR5000 plate reader. A sample was considered positive if its mean  $A_{405}$  value exceeded twice the mean value of the healthy controls.

PCR of 35 cycles was performed in 40 µl reaction volume using the AP group specific pair of primers fO1/rO1 [15] of DNA as template. Negative samples were further tested in the nested PCR assays, where amplification products obtained after 35 cycles in 40 µl reaction volume with the universal primer pair P1/P7 [23] were diluted 1:100 in water and re-amplified with AP group specific primers fO1/rO1 as described above. All sets of reactions included DNA samples from healthy plants and controls lacking template DNA as well as positive controls. Samples (15 µl) of PCR product were resolved by 1 % agarose gel electrophoresis and visualized by staining with ethidium bromide ( $2 \times 10^{-4} \text{ mg ml}^{-1}$ ) and UV illumination.

### 3 RESULTS

Plants were examined several times a year for the following morphological and colour changes on AP infected apple plants [10, 11, 12]: the average leaf size, leaf colour (chlorosis and discoloration, browning, reddening, yellowing), the size of leaf stipules and petioles, the number of leaf stipules, the shape of leaf lamina (curling, rolling, malformations), jaggedness and shape of leaf margins, the shape and the colour of leaf veins, the formation of the rosettes on terminal or lateral shoots, witches-broom formation, stunting or dwarfing of shoots and whole stocks. All types of symptoms were observed (Table 1). The present study showed that

the AP phytoplasma-free plants (confirmed by laboratory tests) expressed some non-specific AP-like symptoms in a very low frequency (see the last part of Tables 1). These symptoms were mostly: reddening of leaves, shoot chlorosis, apex rosette formation, leaf curling, and leaf malformations. Based on these results we divided the symptoms in two groups: the AP-specific and non-specific. Witches-broom formation, enlarged stipules and increased number of stipules were considered as AP specific symptoms which do not appear on healthy plants, all other presented symptoms were considered as non-specific symptoms because they have been recorded sporadically also in AP phytoplasma-free plants.

### 3.1 Expression of AP symptoms in different apple cultivars

Different cultivars showed considerable variability in the time of occurrence, type and intensity of AP symptoms. The differences among cultivars are presented in percentages of infected stocks (confirmed by laboratory tests) expressing a particular AP - specific or non-specific symptom. Witches' broom formation (most specific AP symptom) was frequent in one-year old infected stocks of cvs. Elstar (59.3%), Gala (53.2%), Jonagold (68.3%) and Golden delicious (61.2%). Only a smaller portion of infected Fuji and Braeburn stocks (both 13.5%) showed AP symptoms in the form of witches' broom formation in the first year, but the percentage increased during the second and third year of development. These two cultivars appear to be difficult for early visual detection of AP in the first year. In one-year old Idared stocks typical brooms were recorded in only 24.3% of stocks. 52.8% of the two-year old Idared stocks formed atypical brooms which were different in structure from brooms in other cultivars. Infected stocks of cv. Idared often formed apex rosettes (83.3%) instead of brooms. Rosette formation was often accompanied by stunting and dwarfing of the whole plants or single shoots in that cultivar (55.6, 80.6%). Notably, stunting and dwarfing of whole plants or single shoots were a rarely noticed symptom in other cultivars in the present study. Enlarged stipules, which are also a common and specific symptom of AP, most often appeared in cultivars Elstar (in 61.1% of one-year, and in 77.8% of the two year old stock), Gala (in 36.2% of one-year, and 69% of two year old stock), Golden Delicious (in 40.8% of one-year, and 68.1% of the two year old stock) and Jonagold (in 40% of one-year, and 57.1% of the two year old stock), and was considerably less frequent in Idared, Fuji and Braeburn stocks.

Increased number of stipules (here considered as an AP - specific symptom) mostly appeared in Elstar stocks (in 53.7% of one-year, and 74.1% of the two-year old stock) and very rarely in cultivars Fuji, Gala, Jonagold and Golden Delicious. This symptom did not appear in any of the infected Braeburn and Idared stocks. Early reddening of leaves and spring chlorosis (here considered as a non-specific symptom) appeared in all cultivars in a similar frequency, and were occasionally also recorded in non-infected stocks. Therefore, these symptoms are less reliable in young apple trees, but, they should not be ignored completely, especially in cv. Fuji and Braeburn where those non-specific symptoms appear the first and the brooms appear later. Our results showed that they appeared 5 to 15 times more frequently in infected than in non-infected stocks (see the results at the end of the Table 1). Notably, in infected Fuji stocks, spring chlorosis was frequently recorded. Since no other cultivar expressed such consistency in chlorosis, this symptom could be regarded as specific only for the cv. Fuji. This and other data presented in Table 1 support our hypothesis that young AP infected trees of different apple cultivars show differences in type and frequency of AP - specific as well as in non-specific symptoms. Moreover, some specific and non-specific symptoms could be clearly

associated with a particular cultivar of apple stocks (e.g., specific chlorosis of leaves in Fuji, specific rosette formation in Idared and an increase in number of stipules in Elstar).

### 3.2 The onset of AP symptom expression

The percentage of infected trees (confirmed by laboratory tests) that showed one or more visually detectable symptom, increased with the age of stocks, i.e. time after grafting. One-year old infected trees showed specific symptoms ranging between 18.9%-75.5%, two-year old stocks between 39.4-87.0%, and three-year old stocks between 44.8 and 89.7%. Results show that approximately one half of the infected stocks do not show AP specific symptoms in the first year of development (see Table 1, age 1). Specific symptom expression increased in the second year of development, but no further significant increase was observed in the third year (see Table 1, age 3). More than 20% of one-year old and more than 10% of two-year old infected stocks did not show any kind of disease symptoms. The method of the stock propagation (budding or grafting) did not considerably influence the symptom expression. Specific and non-specific symptoms appeared with similar frequency in infected budded and grafted stocks in all three years of stock development (data for budded and grafted stocks are not shown separately). Witches-brooms, reddening, enlarged stipules and apex rosettes were the most frequent symptoms expressed more or less equally in budded and grafted stocks.

## 4 DISCUSSION

Even in case of best certified planting material, a very small percentage of trees placed on the market could still be infected by the AP phytoplasma, and could present an initial source for a disease spread [6]. This is particularly important in case of newly established plantations in apple growing areas with low disease occurrence, where an early detection of infected trees and their removal is as important as intensive vector control. The visual observation of AP disease in apple trees (e.g. nursery stock) is unreliable and very subjective if there are no visible typical symptoms of AP infection (i.e. witches brooms). Laboratory analyses are much more reliable and standardized for assesment of the AP phytoplasma infection [3], although there is no clear data available about their use on young nursery apple stock. Our hypothesis was that the visual detection could still represent an effective tool of preventing the introduction of AP infected planting material, providing that the producers of nursery stocks are well informed and trained in recognizing symptoms of AP in young apple stocks. In order to increase the quality of visual detection of young infected trees it is essential to describe specific cultivar-related and reliable AP symptoms in detail. The obtained results indicate that between 60 - 65% of AP infected two- to three-year old trees can be expected to show one or more visually detectable AP – specific or non-specific symptom. Such a relatively high rate in AP symptom expression (considering also non-specific symptoms) should provide the fruit grower with enough information to detect the presence of AP infected trees in plantations early enough to prevent a further disease spread. Our study shows that differences among apple cultivars exist and are noticeable by thorough observations.

The present experiment showed that also the AP phytoplasma-free plants may express some non-specific symptoms (in this study reddening of leaves, shoot chlorosis, apex rosette formation, leaf curling, and leaf malformations), but in a very low frequency. Non-specific disease symptoms are usually ignored in nurseries, since nobody relates them with



phytoplasma infection. As our results show, in high percentage of infected plants, non-specific symptoms appear earlier than specific symptoms (in this study full witches-broom formation, enlarged stipules and increased number of stipules).

The results of our study suggest that the non-specific disease symptoms, which also tend to be less obvious, should not be ignored in visual detection of AP diseased young apple trees. They should be regarded as an indication that AP infected trees are present in a plantation. Although they were found in AP phytoplasma free apple stocks and therefore declared non-specific, it should be pointed out that the non-infected trees grown in favourable conditions rarely express the described non-specific symptoms. They could be contributed to the lack of nutrients, use of chemicals for induction of branching, insect damage, drought stress, virus infection and other (observations of the present authors). Especially apex rosette formation is a symptom which often causes confusion among producers of the stocks. It usually occurs due to the irregular water supply (alternating irrigation), or when tip cutting is performed, and in the case of P, B and Zn shortage [8, 17]; observations of the present authors). Even the witches-broom formation could be associated with nutrient deficiency. In case of boron deficiency, after dieback or stunt of shoot tips, branches may proliferate, causing a witches-broom growth. According to our knowledge there is no comprehensive symptoms observation on different cultivars published.

Specific and non-specific symptoms are the consequence of physiological changes influenced by phytoplasmas. It is still unknown how exactly phytoplasmas interact with phloem tissue of hosts on molecular level [4, 13]. There is a close relation between physiological changes in apple phloem tissue caused by phytoplasmas and mobility of micro- and macro nutrients, carbohydrates, amino-acids and other substances important for life of plants [13]. Kartte and Seemüller [11, 12] state that usually the first detectable anatomical aberration is an abnormal deposition of callose on the sieve areas of the sieve tubes, followed by the collapse of these elements and the companion cells. Depending on the susceptibility of the host, a smaller or larger proportion of the sieve tubes necrotize. The carbohydrate content in the roots of infected trees may decrease significantly, indicating the starvation of roots [12]. In apple trees expressing AP symptoms, a strong reduction or virtually complete depletion of starch was observed in the roots, whereas in woody stem tissue the starch content was similar to that of healthy trees [12].

It seems that the symptoms expressed in apple trees due to the lack of nutrients (Mg, P, K, Zn, B) can closely resemble the symptoms developed due to the infection with AP phytoplasma. Lepka et al. [13] have described a striking visual similarity between the symptoms in phytoplasma-infected and the genetically modified tobacco plants with inhibition of nutrient transport. Transport of organic substances and minerals in phytoplasma-infected plants is severely hindered by damaged vascular tissues. In both cases, i.e. in case of real nutrient lack and in case of phytoplasma infection, nutrients are not available in adequate quantity to the sink tissues, therefore disease symptoms start to develop.

We are aware that our experimental design influenced our results significantly. Scions and buds for propagation were taken from mother trees expressing more or less obvious symptoms (i.e. witches-broom formation, enlarged stipules and increased number of stipules). We had to assure the presence of phytoplasma in produced stocks in order to carry out the trial.

**Table 1:** Percentage of infected trees as confirmed by laboratory tests, which showed visible AP symptoms, according to symptom type, age and apple cultivar. Data printed in bold represent the most obvious differences between cultivars.

**Preglednica 1:** Delež laboratorijsko potrjenih okuženih dreves, ki so kazala vizualna znamenja metličavosti jablan v odvisnosti od vrste znamenja, starosti in sorte. Podatki v poudarjenem tisku prikazujejo najbolj očitne razlike med sortami.

Type of symptom:	Age	FU	BR	GA	EL	JO	GD	ID
Spring chlorosis and discoloration of leaves (NS)	1	<b>32.4</b>	10.8	31.9	5.6	18.3	18.4	10.8
	2	<b>33.3</b>	<b>7.3</b>	21.4	9.3	19.6	21.3	19.4
	3	34.5	8.8	18.8	9.3	20.0	23.1	21.9
Early summer and fall reddening of leaves (NS)	1	35.1	54.1	44.7	46.3	31.7	40.8	24.3
	2	33.3	61.0	54.8	37.0	35.7	44.7	61.1
	3	37.9	64.7	53.1	37.2	37.8	43.6	59.4
Leaf curling, rolling and malformations (NS)	1	21.6	27.0	25.5	27.8	33.3	51.0	37.8
	2	24.2	24.4	23.8	9.3	35.7	36.2	38.9
	3	27.6	23.5	25.0	9.3	35.6	38.5	40.6
Changes on the leaf margins (jaggedness) (NS)	1	16.2	16.2	21.3	31.5	33.3	36.7	21.6
	2	<b>9.1</b>	12.2	19.0	9.3	30.4	27.7	33.3
	3	10.3	11.8	18.8	9.3	28.9	28.2	37.5
Changes of leaf vines (branching, colour, ...) (NS)	1	<b>10.8</b>	13.5	31.9	5.6	55.0	22.4	0.0
	2	<b>3.0</b>	14.6	23.8	0.0	51.8	19.1	0.0
	3	3.4	14.7	21.9	0.0	51.1	20.5	0.0
Apex rosette formation on shoots (NS)	1	21.6	32.4	21.3	31.5	30.0	26.5	<b>48.6</b>
	2	21.2	36.6	38.1	37.0	32.1	17.0	<b>83.3</b>
	3	24.1	38.2	37.5	32.6	28.9	20.5	84.4
Stunting and dwarfing of single shoots (NS)	1	24.3	16.2	12.8	14.8	13.3	18.4	<b>62.2</b>
	2	24.3	12.2	26.2	35.2	14.3	25.5	80.6
	3	27.6	11.8	25.0	34.9	13.3	28.2	81.3
Stunting and dwarfing of whole plants (NS)	1	0.0	0.0	0.0	0.0	3.3	0.0	<b>35.1</b>
	2	0.0	0.0	7.1	7.4	3.6	0.0	<b>55.6</b>
	3	0.0	0.0	6.3	7.0	4.4	0.0	62.5
Formation of witch's brooms (S)	1	<b>13.5</b>	<b>13.5</b>	53.2	59.3	68.3	61.2	<b>24.3</b>
	2	42.4	<b>61.0</b>	<b>81.0</b>	83.3	71.5	<b>85.1</b>	<b>52.8</b>
	3	51.7	64.7	78.1	81.4	73.3	87.2	53.1
Enlarged stipules (S)	1	<b>0.0</b>	<b>16.2</b>	36.2	61.1	40.0	40.8	<b>8.1</b>
	2	12.1	19.5	<b>69.0</b>	77.8	57.1	68.1	16.7
	3	13.8	20.6	68.8	74.4	53.3	74.4	15.6
Enlarged number of leaf stipules (S)	1	2.7	0.0	8.5	<b>53.7</b>	0.0	0.0	0.0
	2	3.0	0.0	11.9	<b>74.1</b>	<b>3.6</b>	2.1	0.0
	3	3.4	0.0	12.5	72.1	2.2	2.6	0.0
Infected trees expressing at least one of the specific symptoms (S)	1	<b>18.9</b>	24.3	63.8	70.4	75.0	75.5	29.7
	2	<b>39.4</b>	46.3	76.2	87.0	78.6	85.1	41.7
	3	44.8	47.1	75.0	81.4	75.6	89.7	46.9
Infected trees expressing at least one of the non-specific symptoms (NS)	1	<b>54.1</b>	62.2	61.7	61.1	46.7	65.3	43.2
	2	<b>57.6</b>	63.4	78.6	85.2	75.0	83.0	83.3
	3	62.1	64.7	78.1	83.7	73.3	84.6	87.5
Healthy trees expressing at least one of the specific symptoms (S)	1	0.0	0.0	0.0	0.4	0.3	0.0	0.0
	2	0.0	0.0	0.05	0.3	0.2	0.0	0.0
	3	0.0	0.0	0.0	0.3	0.2	0.0	0.0
Healthy trees expressing at least one of the non-specific symptoms (NS)	1	8.1	5.4	6.4	7.4	5.0	6.1	5.4
	2	6.1	4.9	4.8	3.7	5.4	4.3	5.6
	3	6.9	5.9	6.3	4.7	6.7	5.1	6.3

(FU – Fuji, BR – Braeburn, GA – Gala, EL – Elstar, JO – Jonagold, GD – Golden Delicious, ID – Idared, S – AP specific symptoms, NS - non-specific symptoms; 1, 2, 3 - 1, 2, 3 years old trees)

## 5 CONCLUSIONS

Besides intensive vector control an early detection of infected trees and their removal is important in newly established plantations in apple growing areas. The results of our study show that the less obvious (non-specific) AP disease symptoms should be regarded as an indication that AP infected trees are present in plantation. We have shown that non-infected trees grown in favourable conditions rarely express the described non-specific symptoms. The obtained results indicate that, on average, 60%-65% of AP infected two- to three-year old trees can be expected to show one or more visually detectable non-specific or specific symptoms. In order to increase the quality of visual detection of young infected trees it is essential to describe specific cultivar-related and reliable AP symptoms more in detail. Our study shows that important differences among apple cultivars exist and are noticeable by thorough observations. On the basis of our results visual inspection could be improved for AP detection in plantations.

## 6 ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the joint grant nr. Z4-3290 from the Ministry of Agriculture, Forestry and Food and Ministry of Higher Education, Science and Technology of Slovenia. All the technical staff from the Experiment Station Hoče, are greatly acknowledged for their technical and practical contribution to apple stock production.

## 7 LITERATURE

1. Ahrens, U., Seemüller, E., Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasmalike organisms by a polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16S rRNA gene.- *Phytopathology*, 82(1992), p. 828-832.
2. Baric, S., Kerschbamer, C., Wolf, M., Dalla-Via, J., Latenter Apfeltriebsuchtbefall in einer Erwerbsanlage.- *Obstbau Weinbau (Sondernummer Mycoplasmen)*, 40(2003)11, p. 302-303.
3. Baric, S., Dalla-Via, J., A new approach to apple proliferation detection: a highly sensitive real-time PCR assay.- *Journal of Microbiological Methods*, 57(2004)1, p. 135-145.
4. Bertamini, M., Grando, MS., Muthuchellian, K., Nedunchezian, N., Effect of phytoplasmal infection on photosystem II efficiency and thylakoid membrane protein changes in field grown apple (*Malus pumila*) leaves.- *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 61(2002), p. 349-356.
5. Brzin, J., Ermacora, P., Osler, R., Loi, N., Ravnikar, M., Petrovič, N., Detection of apple proliferation phytoplasma by ELISA and PCR in growing and dormant apple trees.- *Journal of Plant Disease and Protection*, 110(2003)5, p. 476-483.
6. Camara-Machado, M.L., Heinrich, M., Hanzer, V., Arthofer, W., Strommer, S., Paltrinieri, S., Martini, M., Bertaccini, A., Kummert, J., Davies, D., Improved detection of viruses and phytoplasmas in fruit tree tissue cultures.- V: Clark, M.F. (Ed.), *Proceedings of the 18<sup>th</sup> International Symposium on Virus & Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops*, East malling, Kent, UK, *Acta Horticulturae*, 550(2001)2, p. 463-469.

7. Christensen, N.M., Nicolaisen, M., Hansen, M., Schulz, A., Distribution of Phytoplasmas in Infected Plants as Revealed by Real-Time PCR and Bioimaging.- Molecular plant-Microbe Interactions, 17(2004)11, p. 1175-1184.
8. Ferree, D.C. and Warrington, I.J., Apples: Botany, Production and Uses.- CAB International, CABI Publishing, 2003, 600 s.
9. Fried, A., Internationale Arbeitsgruppe Apfeltriebsucht.- Obstbau, 27(2003)4, p. 194-195.
10. Kartte, L., Seemüller, E., Variable response within genus *Malus* to the apple proliferation disease.- Zeit. für Pflanzen. und Pflanzenschutz, 95(1988)1, p. 25-34.
11. Kartte, L., Seemüller, E., Susceptibility of grafted *Malus Taxa* and hybrids to apple proliferation disease. Journal of Phytopathology, 131(1991), p. 137-148.
12. Kartte, L., Seemüller, E., Histopathology of Apple Proliferation in *Malus Taxa* and Hybrids of Different Susceptibility.- Journal of Phytopathology, 131(1991), p. 149-160.
13. Lepka, P., Stitt, M., Moll, E., Seemüller, E., Effect of phytoplasmal infection on concentration and translocation of carbohydrates and amino acids in periwinkle and tobacco.- Physiological and Molecular Plant Pathology, 55(1999), p. 59-68.
14. Loi, N., Carraro, L., Musetti, R., Firrao, G., Osler, R., Apple proliferation epidemics detected in scab-resistant apple trees.- Journal of Phytopathology, 143 (1995), p. 581-584.
15. Loi, N., Ermacora, P., Carraro, L., Osler, R., Production of monoclonal antibodies against apple proliferation and their use in serological detection. European Journal of Plant Pathology, 108(2002), p. 81-86.
16. Lorenz, KHB., Schneider, U., Ahrens, E., Seemüller, E., Detection of the Apple Proliferation and Pear Decline Phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and non ribosomal DNA.- Phytopathology, 85(1995), p. 771-776.
17. Marschner, H., Mineral nutrition of higher plants.- Second edition, Academic Press, London – San Diego- New York, 1995, p. 361-392.
18. Schaper, U., Seemüller, E., Conditions of the phloem and the persistence of mycoplasma-like organisms associated with apple proliferation and pear decline.- Phytopathology, 72(1982), 736-742.
19. Seemüller, E., Schaper, U., Kunze, L., Colonization behaviour of MLO, and symptom expression of proliferation-diseased apple trees and decline-diseased pear trees over a period of several years.- Zeit. für Pflanzen. und Pflanzenschutz, 91(1984)5, p. 525-532.
20. Seemüller, E., Schaper, U., Zimbelmann, F., Seasonal variation in the colonization patterns of mycoplasma-like organisms associated with apple proliferation and pear decline.- Zeit. für Pflanzen. und Pflanzenschutz, 91(1984)4, p. 371-382.
21. Seemüller, E., Colonization Patterns of mycoplasma-like organisms in trees affected by apple proliferation and pear decline.- V: Hiruki C (Ed.): Tree Mycoplasmas and Mycoplasma Diseases, The University of Alberta Press, Edmonton, Canada, (1988), p. 179-192.
22. Seemüller, E., Diseases caused by Mycoplasmas – Apple proliferation.- V: Jones AI and Aldwinckle HS (Eds.): Compendium of Apple and Pear Disease, APS Press, ZDA, (1991), p. 67-68.

23. Seemüller, E., Kison, H., Lorenz, K.H.B, Schneider, U., Marcone, C., Smart, C.D., Kirkpatrick, B.C., Detection and Identification of fruit tree Phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA. V: Manceau C, Spak J (Eds.): Abstract Book of Workshop of the nucleic acid-based technology; Advances in the detection of plant pathogens by polymerase chain reaction (Cost 823). Part two – PCR detection of Phytoplasma, Češke Budejovice, Czech Republic, 1996, p. 56 – 66.
24. Seemüller, E. and Schneider, B., 'Candidatus Phytoplasma mali', 'Candidatus Phytoplasma pyri' and 'Candidatus phytoplasma prunorum', the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively.- International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology. 54(2004)4, p. 1217-1226.
  25. Seidl, V., Some results of several years study on apple proliferation disease.- Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae, 15(1980), p. 241-245.
26. Tedeshi, R., Alma, A., Transmission of Apple Proliferation Phytoplasma by *Cacopsylla melanoneura* (Homoptera: Psyllidae).- Journal of Economic Entomology, 97(2004), p. 8-13.



**PRIMERJAVA OCEN IZPIRANJA IZBRANIH FITOFARMACEVTSKIH  
SREDSTEV S FOCUS MODELOMA PELMO IN PEARL NA SREDNJE GLOBOKIH  
EVTRIČNIH RJAVIH TLEH V SAVINJSKI DOLINI**

Matej KNAPIČ<sup>1</sup>, Andrej SIMONČIČ<sup>2</sup>

UDK / UDC 338.48-44 (1-22):659.3 (045)  
izvirni znanstveni članek / original scientific article  
prispelo / received: 28.11.2007  
sprejeto / accepted: 15.12.2007

**IZVLEČEK**

Uporaba modelov pri napovedi ocene izpiranja fitofarmaceutskega sredstev (FFS) je zelo razširjena, saj omogoča enoten in relativno enostaven način preverjanja potencialnega obsega izpiranja. V postopku registracije FFS v Evropski skupnosti sta najpogostejše v rabi FOCUS modela PELMO in PEARL, zato smo preverili primerljivost obeh ocen modelov na podatkih profila srednje globokih evtričnih rjavih tal ter nizu vremenskih podatkov za Celje za obdobje 1974-2000. Osnovne podatke talnih lastnosti smo normalizirali na delež tal, ki ne vsebuje proda kot inertnega člena v procesu usode in obnašanja FFS v tleh. Preverili smo vpliv enotne disperzijske dolžine obeh modelov na bolj enotno oceno obsega izpiranja. Modeliranje je pokazalo, da sta modela primerljiva v napovedi obsega izpiranja ter da poenotenje disperzijske dolžine ne pripomore k zmanjšanju razlik med modelnimi napovedmi koncentracij FFS v talni raztopini med obema modeloma.

**Ključne besede:** izpiranje, fitofarmaceutska sredstva, podzemne vode, modeliranje, prodnata tla

**COMPARISON OF LEACHING PREDICTION FOR SELECTED PESTICIDES  
USING PELMO AND PEARL FOCUS MODELS ON MEDIUM DEPTH EUTRIC  
CAMBISOL IN THE SAVINJA VALLEY**

**ABSTRACT**

Use of pesticide leaching models is common process because modeling enables uniform and relatively simple way of testing the leaching potential of pesticide. FOCUS PELMO and PEARL models are most frequently used in pesticide registration process, so we tested predicted pesticide concentration in soil solution at 1m soil depth at both models. Both models were tested on soil data from profile, which developed on gravel and sand deposit, and weather data series of Celje for the period 1974-2000. Basic soil properties characteristics were normalized to active part of soil so we have excluded a portion of gravel, which has no direct influence on fate and behavior of pesticide in soil. A comparison of influence of the same dispersion length in both models on pesticide leaching prediction was made. Modeling results show similar rate of pesticide leaching prediction. A uniform dispersion length does not decrease differences between predicted pesticide leaching concentrations of both models.

**Keywords:** pesticides, leaching, groundwater, modeling, gravely soil

---

<sup>1,2</sup> Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, 1000 Ljubljana; [matej.knapic@kis.si](mailto:matej.knapic@kis.si)

## 1 UVOD

Čeprav je spremljanje izpiranja fitofarmaceutskih sredstev (FFS) s poskusi »in situ« najbolj zanesljiv kazalec potencialnega onesnaževanja podzemnih vod, so v svetu poznani številni modeli, ki skušajo oceniti potencialni obseg izpiranja FFS iz tal. Spremljanje izpiranja FFS z lizimetri je namreč zamuden in drag proces, kjer so rezultati veljavni za specifične razmere in jih je zelo težko prevesti v drugačne okoljske razmere. Velika prednost modelnih ocen je prav prilagodljivost modelov, ki omogoča preverjanje potencialnega obsega izpiranja določenega FFS v različnih razmerah. Modeliranje nam tako omogoča, da lahko v kratkem času preverimo interakcije različnih razmer na proces izpiranja FFS.

V postopkih registracije FFS se uporabljajo štirje FOCUS modeli, in sicer: PELMO, PRZM, PEARL in MACRO. Čeprav se njihova zasnova v mnogih segmentih oziroma modelnih funkcijah razlikuje, so rezultati velikokrat primerljivi, tako da uspejo v zadostni meri oceniti obseg izpiranja posameznega FFS. Zaradi tega dejstva je njihova uporabnost splošno priznana na prvem nivoju preverjanja primernosti uporabe FFS [1]. V FOCUS modelih PELMO, PRZM in PEARL je vključenih 9 FOCUS scenarijev. Scenariji odražajo kombinacijo različnih talnih in klimatskih razmer in so enakomerni porazdeljeni po celotnem območju držav Evropske skupnosti pred njeno zadnjo veliko širitvijo leta 2004. Takšna porazdeljenost in nabor kombinacij omogočajo preverjanje primernosti rabe določenega FFS na najširšem območju Evropske skupnosti [2].

Slovenija je s svojim naborom kombinacij talnih lastnosti in klimatskih razmer specifična, saj se na prodnato peščenih nasutinah naših glavnih vodotokov odvija intenzivna kmetijska pridelava, hkrati pa je na večjem delu več kot 1000 mm letnih padavin. V okviru dosedanjega dela in modeliranja smo s pripravo nabora talnih in klimatskih lastnosti ugotovili, da se slovenske razmere v osrednji Sloveniji močno razlikujejo od kombinacije parametrov uveljavljenih scenarijev. Zato je potrebno za učinkovito varstvo slovenskih podzemnih vod pripraviti nabor parametrov, ki odražajo razmere tako imenovanih realno slabih lastnosti [3]. Ti parametri naj ne bi odražali ekstremnih razmer, saj bi v takem primeru le redko katero FFS izpolnilo kriterije za varno rabo. Realno slabe razmere morajo biti odraz razmer, ki se pojavljajo v tako velikem obsegu, da v večji meri vplivajo na stanje podzemnih vod na določenem območju.

Pri preverjanju obsega potencialnega izpiranja FFS iz tal se v večji meri uporabljata FOCUS modela PELMO in PEARL. Prvi je sorazmerno enostaven in hkrati nezahteven za računalniške zmogljivosti, medtem ko je model PEARL kompleksnejši predvsem v segmentu modeliranja gibanja vode v tleh. Za gibanje vode in računanje vodne bilance ima v svojo strukturo vgrajen podmodel SWAP. PELMO model opisuje gibanje vode po principu polnega vedra, kar pomeni, da se voda pomakne iz enega v drug horizont, ko doseže točko poljske kapacitete. V PEARL modelu pa je osnova gibanja vode Richardova enačba, ki opisuje tok vode kot razliko potenciala vode med dvema točkama.

V ostalih segmentih, predvsem kemizma FFS (sorpcije, razgradnje, itd), sta si modela zelo podobna. Boesten [4] je opozoril, da je razlika v rezultatih izprane količine FFS med modeloma PELMO in PEARL v veliki meri posledica različnih dolžin disperzije, ki se uporabljata v modelnih izračunih. Disperzija, konvekcija in difuzija so glavni parametri pri opisu transporta aktivne snovi v tekoči fazi tal. V PEARL modelu je dolžina disperzije 5 cm, medtem ko je v PELMO 2,5 cm. Čeprav so mnenja o pravilni izbiri disperzijske dolžine različna [5, 2], med drugim prevladuje mnenje, da bi bilo potrebno uporabljati za zgornji



horizont tal disperzijsko dolžino 2,5 cm in za spodnje globine 5 cm, je zadnje sporočilo ekspertov FOCUS skupine [5], da zaradi postopka harmonizacije modeliranja priporoča enotno uporabo 5 cm disperzijske dolžine. Seveda na razlike v koncentracijah oziroma količinah izpranega FFS vpliva tudi že omenjen različen princip modeliranja toka vode v tleh.

V raziskavi je narejena primerjava rezultatov modeliranja izpiranja petih FFS z modeloma PELMO in PEARL. Vhodni parametri so prilagojeni za realno slabe razmere za Savinjsko dolino, ki jih ponazarja srednje globoka oblika evtričnih rjavih tal. Posebnost slovenskih razmer je ta, da se poleg večje količine letnih padavin soočamo s tlemi, ki imajo večjo količino proda v talnem profilu. Prod seveda negativno vpliva na sorpcijske in vodno zadrževalne sposobnosti tal. V Savinjski dolini je srednje globoka oblika evtričnih rjavih tal najbolj razširjena oblika evtričnih rjavih tal. Rezultati in princip modeliranja pa so zaradi primerljivosti uporabni tudi za širše slovenske razmere.

## 2 MATERIAL IN METODE DELA

Za oba FOSUS modela, PELMO 3.3.2 in PEARL 3.3.3, smo priredili zapis vremenskih podatkov za vremensko postajo Celje za obdobje 1974-2000 (MOP, ARSO). Šestindvajsetletni niz podatkov je namreč najmanjši možni niz za oba modela. Za potrebe prilagoditve modela smo na osnovi terenskih raziskav območja izbrali reprezentativni talni profil ter analizirali osnovne kemične in fizikalne lastnosti. Talni profil smo izkopali v neposredni bližini Šempetra.

**Preglednica 1:** Osnovne kemijske lastnosti ter tekstura profila tal iz Šempetra

**Table 1:** Basic chemical properties and soil texture of the Šempeter soil profile

Horizont/globina	pH v KCl	pH v H <sub>2</sub> O	% org. snovi	% C	% gline	% melja	% peska	Teksturni Razred (ameriška teksturna klasifikacija)
Ap; 0-29 cm	6,6	7,4	3,3	1,9	27	39,2	33,8	Ilovica do glinasta ilovica; I-GI
AB; 29 - 42 cm	6	7,3	2,2	1,3	30,9	34	35,1	Glinasta ilovica; GI
Bv; 42 - 69 cm	6,1	7,3	1,7	1,0	33,4	30,7	35,8	Glinasta ilovica; GI
CB; 69 – 90	6,1	7,4	1,2	0,7	27	13	60	Peščeno glinasta ilovica; PGI

**Preglednica 2:** Volumska gostota, odstotek (%) proda, ter poljska kapaciteta (PK) in točka venenja (TV) za izbran talni profil iz Šempetra

**Table 2:** Soil bulk density, percent (%) of gravel and points of field capacity (PK) and permanent wilting point (TV) of selected soil profile from Šempeter

Horizont/globina	$\rho_s$ gcm <sup>-3</sup>	$\rho_n^*$ gcm <sup>-3</sup>	% proda v./v.	PK v./v.	TV v./v.
Ap; 0-29 cm	1.53	1.38	14,6	0,3824	0,1699
AB; 29 - 42 cm	1.61	1.348	26,3	0,3437	0,1745
Bv; 42 - 69 cm	1.67	1.2297	44,2	0,3681	0,1892
CB; 69 – 90	1.58	1.099	48,1	0,1868	0,1868

\* normalizirana volumska gostota

Za ustrezno modeliranje je potrebno analitske podatke prilagoditi vrednostim za aktivni del tal. Volumen aktivnega dela tal (frakcija tal manjša od 2mm) predstavlja volumen tal brez proda, saj prod predstavlja inerten del, ki neposredno ne vpliva na sorpcijo oziroma druge procese v kemizmu tal. Za potrebe modeliranja smo uvedli izraz normalizirana volumska gostota tal, ki predstavlja volumsko gostoto aktivnega dela tal. Van Genuchtenove parametre tal smo določili na osnovi vodnoretencijske krivulje tal ter s pomočjo RETC programa, ki kvantificira hidravlične parametre tal Mualem Van Genuchtenove funkcije.

Pri primerjavi modeliranja FOCUS modelov PELMO in PEARL smo kot testne substance uporabili standardni testni nabor FOCUS FFS (FFS A, B, C in D), ki je sestavni del obeh modelov. Ta nabor FFS je zasnovan tako, da demonstrira različen obseg izpiranja. Testne substance imajo takšne lastnosti, da ponazarjajo različne možne scenarije usode FFS v tleh; od majhnega obsega izpiranja - FFS z oznako D do zelo velikega obsega izpiranja - FFS z oznako B.

### 3 REZULTATI IN DISKUSIJA

Primerjavo ocen obsega izpiranja FFS iz tal z obema FOCUS modeloma , PELMO IN PEARL, smo izvedli na podlagi podatkov talnega profila, ki ima takšne lastnosti, da ga lahko uvrstimo v kategorijo povprečnega reprezentativnega profila za območje spodnje Savinjske doline. Ker se v profilu v večji meri pojavlja prod, smo podatke prilagodili na način, da smo vrednosti ( $\rho_s$ , vodno retencijske podatke tal in vsebnost organske snovi) normalizirali na aktiven del tal. Zaradi občutnih razlik v uporabljenih funkcijskih zvezah za gibanje vode v tleh v obeh modelih smo želeli dobiti odgovor, kako uporabna sta oba modela za izdelavo ocene obsega izpiranja FFS iz tal pri takšnih parametrih tal. Ocena obsega izpiranja FFS iz tal je narejena skladno s standardnim postopkom pri ocenjevanju FFS v registracijskem postopku, to je količino oziroma koncentracijo FFS na globini 1 m tal. Številni avtorji [6, 7] so pri oceni FOCUS modelov ugotovili, da ima na končni rezultat obsega izpiranja FFS iz tal največji vpliv kemizem FFS (degradacija FFS, sorpcija, gibanje FFS v talni raztopini, itd.), medtem ko imajo hidravlične lastnosti tal manjši vpliv.

V preglednicah 3 in 4 so povzeti rezultati modeliranj izpiranja testnih FOCUS aktivnih snovi v srednje globoki obliki evtričnih rjavih tal. Pri modeliranju smo uporabili dve različni gojeni rastlini, ozimno pšenico in koruzo. Celoten postopek modeliranja je bil izveden s priporočili za postopek modeliranja na prvi ravni (Tier 1) evaluacije FFS v registracijskem postopku [1]. Med drugim to pomeni vsakoletno aplikacijo FFS v obdobju 26 let ter ugotavljanje osemdesetega percentila koncentracije izpranega FFS na globini 1 m tal za proučevano obdobje.

Rezultati modeliranj kažejo, da obstajajo razlike med modeloma, vendar so rezultati v primerljivih okvirjih oziroma v podobnih koncentracijskih območjih. Nekateri avtorji navajajo [8, 2, 9], da so pomembne razlike predvsem v koncentracijah, ko se izpere manj kot 1 % celotne dodane količine FFS. Pri nižjih koncentracijskih vrednostih naj bi model PEARL vedno napovedal višjo koncentracijo kot PELMO. V našem primeru lahko ugotovimo, da te trditve ne moremo zeti kot absolutno dejstvo. V primeru modeliranja izpiranja FFS z oznako D, je v primeru ozimne pšenice model PELMO napovedal večje koncentracije aktivne snovi kot model PEARL, medtem ko so bile koncentracijske napovedi v kombinaciji s koruzo skladne z napovedmi iz literature.

**Preglednica 3:** Primerjava koncentracij FFS ( $\mu\text{g/L}$ ) na globini 1 m tal profila iz Šempetra pri pridelavi ozimne pšenice z modeloma PELMO in PEARL

**Table 3:** Comparison of predicted concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) of FOCUS active substances at 1 m of soil depth in soil profile from Šempeter modeling with PELMO and PEARL on winter wheat

FFS/model	PEARL (dis. dolžina 2,5 cm)* $\mu\text{g/L}$	PEARL (dis. dolžina 5 cm)** $\mu\text{g/L}$	PELMO $\mu\text{g/L}$
FFS A	1,126	1,883	1,757
FFS B	11,631	17,352	13,668
FFS C***	14,144	14,72	15,269
FFS D	0,03	0,0965	0,124

\* dolžina disperzije v modelnih izračunih je 2,5 cm

\*\* dolžina disperzije v modelnih izračunih je 5 cm

\*\*\* rezultati se nanašajo na metabolit in ne na aktivno snov

**Preglednica 4:** Ocena in primerjava koncentracij FFS ( $\mu\text{g/L}$ ) na globini 1m tal profila iz Šempetra pri pridelavi koruze z modeloma PELMO in PEARL.

**Table 4:** Comparison of predicted concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) of FOCUS active substances at 1 m of soil depth in soil profile from Šempeter modeling with PELMO and PEARL on maize.

FFS/model	PEARL (dis. dolžina 2,5 cm)* $\mu\text{g/L}$	PEARL (dis. dolžina 5 cm)** $\mu\text{g/L}$	PELMO $\mu\text{g/L}$
FFS A	0,7736	1,3644	0,606
FFS B	0,9976	1,3802	1,567
FFS C***	14,2019	14,2113	15,151
FFS D	0,0130	0,0427	0,009

\* disperzijska dolžina v modelnih izračunih je 2,5 cm

\*\* disperzijska dolžina v modelnih izračunih je 5 cm

\*\*\* rezultati se nanašajo na metabolit in ne na aktivno snov

Naslednje odstopanje v ustaljenih vzorcih modelnih napovedi izpiranja FFS je vpliv disperzijske dolžine na koncentracijske vrednosti FFS. Boesten [4], je namreč prišel ob proučevanju vpliva disperzijske dolžine na modelne napovedi do zaključka, da se ob poenotenju disperzijske dolžine (2,5 cm) zmanjšajo razlike v rezultatih med modelnimi napovedmi koncentracij FFS na globini 1 m med modeloma PEARL in PELMO. To trditev je postavil na podlagi modeliranja, kjer je prav tako uporabil testna FOCUS FFS ter proučil modelne napovedi koncentracij vsakega izmed modelov pri vseh scenarijih. Iz rezultatov vpliva disperzijske dolžine na modelne napovedi izpiranja FFS v našem profilu tal in v naših klimatskih razmerah (preglednici 3 in 4) takšnih zaključkov ne moremo postaviti. Ob upoštevanju disperzijske dolžine 2,5 cm namreč modelne napovedi modela PEARL še vedno

podobno odstopajo od koncentracij, izračunanih z modelom PELMO in niso manj variabilne od koncentracij, kjer smo modelirali z disperzijsko dolžino 5 cm. Res pa je tudi, da so nekateri avtorji [2] prišli do zaključka, da disperzijska dolžina 2,5 cm ni primerna pri modeliranju izpiranja FFS v poljskih razmerah, je pa primerna za napoved izpiranja v kolonskih poskusih.

Razlog za odstopanja od vzorca rezultatov modeliranja, ki ga je dobil Boesten, gre najbrž pripisati večji humidnosti naše klime ter zmanjšani skupni sposobnosti profila tal za zadrževanje vode, ki je posledica večje vsebnosti voda. V takšnih razmerah imajo hidravlične lastnosti tal večji pomen, saj je pomik vode hitrejši. Zmanjšana disperzijska dolžina sicer zniža napovedne vrednosti koncentracij FFS na globini 1 m v primeru modela PEARL, vendar so tudi vrednosti dobljene z modelom PELMO odraz hitrejšega pomika vode v tleh. Zato je vzorec modeliranja s PELMO modelom nekoliko drugačen, kot je to v primerih z manjšim in bolj počasnim procesom izpiranja.

#### 4 ZAKLJUČEK

Rezultati modeliranja izpiranja testnih FFS s FOCUS modeloma PELMO in PEARL so pokazali, da so napovedne koncentracije na globini 1 m tal primerljive oziroma v podobnih koncentracijskih območjih. Glede na izkušnje in preverjanja uporabnosti obeh modelov v drugih okoljih lahko zaključimo, da sta oba modela primerna za uporabo v razmerah Savinjske doline oziroma s prilagoditvijo talnih in klimatskih vhodnih parametrov tudi za ostale slovenske razmere.

Za razliko od nekaterih drugih avtorjev nismo opazili, da bi poenotenje disperzijske dolžine med modeloma prispevalo k bolj enotni napovedi koncentracij FFS v talni raztopini na globini 1 m tal.

Za potrebe kalibracije obeh modelov bo potrebno v prihodnosti opraviti lizimetske študije *in situ*, saj bodo le tako dobljeni rezultati lahko dopolnili končno sliko o primernosti obeh modelov za napovedovanje izpiranja posameznega FFS na prodnato peščenih nasutinah naših glavnih vodotokov, kjer se v Sloveniji odvija največji del intenzivne kmetijske pridelave.

#### 5 LITERATURA

1. Directive 414/91/EEC.
2. [http://www.pfmodels.org/downloads/EMW4\\_2.pdf](http://www.pfmodels.org/downloads/EMW4_2.pdf) (15. nov. 2007).
3. Knapič, M., Bukovec, P., Fate and behavior evaluation of pesticides in pesticide registration scheme with emphasis on groundwater.- Book of abstracts: 9th International Conference Life Sciences 2004, Nova Gorica, 18th–22th Sep., s. 226.
4. Boesten, J., Influence of dispersion length on leaching calculated with PEARL, PELMO and PRZM for FOCUS groundwater scenarios.- Pest Management Science, 60(2004)10, s. 971-980.

5. Jones, R.L., Boesten, J.J.T.I., Fisher, R., Gottesbüren, B., Hanze, K., Huber, A., Jarvis, T., Klein, M., Pokludova, M., Remy, B., Sweeney, P., Tiktak, A., Trevisan, M., Vanclooster, M., Vanderborght, J., Assessing potential impact to ground water in the EU and the member state registration procedures.- Proceedings Symposium Pesticide Chemistry, Piacenza September 2007, s. 881-888.
6. Bouraoui, F., Testing the PEARL model in the Netherlands and Sweden.- Environmental Modelling & Software, 22(2007)7, s. 937-950.
7. Vanderborght, J., Vereecken, H., One-Dimensional Modeling of Transport in Soils with Depth Dependent Dispersion, Sorption and Decay.- Vadose Zone Journal (2007)6, s. 140-148.
8. Dubus, I.G., Brown, C.D. & Beulke, S., Sensitivity analyses for four leaching models.- Pest Management Science, (2003)59, s. 962-982.
9. Opinion of the Scientific Panel on Plant Health, Plant Protection Products and their Residues on a request from EFSA on the FOCUS groundwater models comparability and the consistency of this risk assessment of ground water contamination (Question N° EFSA-Q-2004-58).- The EFSA Journal, (2004)93, s. 1-20.



**ANALIZA UPORABE ELEKTRONSKIH MEDIJEV V KMEČKEM TURIZMU**Martin PAVLOVIČ<sup>1</sup>, Boštjan PETAK<sup>2</sup>UDK / UDC 338.48-44 (1-22):659.3 (045)  
izvirni znanstveni članek / original scientific article  
prispelo / received: 25.08.2007  
sprejeto / accepted: 16.11.2007**IZVLEČEK**

Razvoj sodobne informacijsko-komunikacijske tehnologije (IKT) in nezadostna učinkovitost klasičnih medijev oglaševanja povzročata premike v strategijah oglaševanja. Za doseg potencialnih potrošnikov se vse bolj uporabljajo elektronski mediji, med katerimi je v ospredju internet. V praksi se že uporablja nekaj modelov e-poslovanja, ki so uporabni tudi na področju kmetijskega podjetništva. Najbolj zanimivi modeli so elektronske trgovine in elektronske tržnice, s katerimi bi turistične kmetije lahko razširile obseg svojega poslovanja in izboljšale svoj poslovni uspeh. Rezultati raziskave o uporabi sodobne IKT na analiziranem vzorcu turističnih kmetij v RS kažejo, da bo v prihodnje potrebno vložiti še dodatne napore v izboljšanje opremljenosti kmetij s promocijskimi spletnimi stranmi, dvigniti raven poznavanja trženjskih orodij in splošno znanje s področja trženja. Predstavljene so ugotovitve analize vzorca 17% registriranih slovenskih turističnih kmetij v letu 2006. Te izkazujejo precejšnje razlike glede celovitega dojemanja in sprejemanja IKT aplikacij kot je e-poslovanje med nosilci turističnih kmetij glede na stopnjo njihove izobrazbe ter kategorizacijo kakovosti kmetije.

**Ključne besede:** informacijsko-komunikacijske tehnologije, kmetijsko podjetništvo, turizem

**ANALYSIS OF ELECTRONIC MEDIA USE IN FARM TOURISM****ABSTRACT**

The development of modern information and communication technology (ICT) and insufficient efficiency of classical media in the field of advertising cause changes in advertising strategies. For reaching the potential customer the e-media are used with internet as the most important device. There are some models of e-commerce used in practice, which are also suitable in the farm entrepreneurship. The most interested models are those of e-shop and e-commerce, which may expand the range of farm commerce and they also may improve their business success. The research results of the modern ICT use in the field of tourist farms in Republic of Slovenia show, that some additional improvements are going to be needed in connection to promotion through web pages, to rise the level of marketing tools knowledge and marketing knowledge as general. Results of the sample analysed, where 17% of the registered tourist farms were included, are presented. They point out great differences in comprehension and acceptance of the ICT applications such as e-commerce among Slovenian tourist farm holders considering their level of education and the farm quality rating.

**Key words:** information and communication technologies, farm management, tourism

---

<sup>1</sup> Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalskega tabora 2, 3310 Žalec; [martin.pavlovic@ihps.si](mailto:martin.pavlovic@ihps.si)

<sup>2</sup> Ob parku 2, 2310 Slovenska Bistrica

## 1 UVOD

Informacijsko-komunikacijska tehnologija (IKT) postaja v razmerah globalnega trgovanja eden izmed najvplivnejših dejavnikov za doseg tržnega uspeha, hkrati pa ni zaznati resnih alternativ, ki bi se nanašale na razvoj drugih tehnoloških rešitev [5]. Posebno velike premike prinaša globalizacija na področju poslovanja podjetij. Ta so v razmerah globalne tekme za osvajanje tržišč in pridobivanje potencialnih kupcev postavljena v položaj, ko morajo za doseganje uspeha izpolnjevati nove kriterije tako na ravni organizacije kot tudi na ravni vsakega zaposlenega [11]. Z uporabo novih medijev je prišlo do razvoja novih dimenzij komuniciranja, zato je zelo težko potegniti ločnico med posameznimi instrumenti trženjskega komuniciranja v smislu klasične marketinške teorije. Na področju osebne prodaje se uveljavljajo predvsem pripomočki, kot so računalniška podpora prodaje CAS (Computer aided selling), računalniško podprti prodajni treningi, multimedijско prodajno mesto, elektronski prodajni priročnik in druge oblike spletnih aplikacij. Med instrumente ekonomske propagande lahko uvrstimo tudi elektronski katalog ter nakupovanje s pomočjo televizijskega medija [9]. Na področju direktnega marketinga imajo posebno vlogo in pomen t. i. »online« podprti sistemi, ki informirajo uporabnika o proizvodu, mu omogočajo takojšnje naročilo (nakup) in plačilo. Sodoben podjetnik tako vedno več svojega časa namenja raznim medijem in informacijam, ki jih lahko s pomočjo teh medijev pridobi. Informacija s tem pridobiva povsem druge dimenzije in čedalje večjo vrednost [7].

Razvoj IKT, predvsem širjenje internetnih aplikacij, je spremenil koncept razumevanja in poslovanja na trgu in uvedel pojem virtualnosti na tržiščih. Celoten proces trženja se odvija na osnovi elektronske komunikacije. Ker je internet kot medij oglaševanja relativno mlad, se načini njegove eksploatacije v trženjske namene še vedno razvijajo in izpopolnjujejo [4]. Internet s svojimi značilnostmi omogoča dvosmerno komunikacijo v realnem času, distribucijo izdelkov in storitev v e-obliki ter izvajanje raznih finančnih transakcij. Osnovne podjetniške aktivnosti lahko uokvirimo v t.i. modelu ICDT, kjer tvorijo štiri bazične, med seboj različne prostore (informacijski, komunikacijski, distribucijski in transakcijski) znotraj virtualnega medija, združene v enoten in celosten poslovni proces [1]. Uspeh interneta temelji na dejstvu, da so se sočasno z razvojem novih tehnologij pojavili tudi številni novi načini njihove uporabe. Te korenite inovacije na področju tehnologije dejansko prisilijo podjetja v spremembo poslovanja in prestrukturiranja [6].

Povečanje ponudbe proizvodov in storitev na turističnih kmetijah v RS predstavlja zagotovo eno od redkih realnih priložnosti, kjer lahko v EU na podjetniški ravni enakovredno konkuriramo. Iz makroekonomskih analiz je razvidno, da je vse od leta 1991 moč zaznati stagnacijo oziroma upad izrabe slovenskih turističnih kapacitet. Podobno velja tudi za sektor turizma na kmetijah. Opažen je trend zmanjševanja prenočitvenih kapacitet, upad obiska gostov in zabeleženih nočitev v obdobju po letu 2000 [10]. Z namenom zaustavitve omenjenih negativnih trendov je pospešeno uvajanje uporabe sodobne IKT začrtano tudi v integralni strategiji komuniciranja na področju slovenskega turizma. Novi kanali in načini komuniciranja naj bi v obdobju 2007–2011 pospešili turistični razvoj in izboljšali prepoznavnost slovenske turistične ponudbe. Vzporedno z drugimi gospodarskimi sektorji je tudi na področju turizma predvideno pomembno vlaganje v izgradnjo sistemov e-poslovanja, ki bi zadostili sodobnim potrebam turistične promocije in rezervacij oziroma celovite informacijske oskrbe potencialnih potrošnikov.

Pričujoča raziskava je bila usmerjena v anketno analizo stanja opremljenosti ter poznavanja in uporabe IKT na turističnih kmetijah v Sloveniji. Njeni rezultati dopolnjujejo kvantitativne predstave o poznavanju sodobnih oglaševalskih strategij in ocenjujejo trende uporabe internetnih aplikacij v promocijske in trženjske namene na področju kmetijskega podjetništva. Sklepno so



podani zaključki oz. predlogi za izboljšanje koriščenja sodobnih elektronskih medijev v podjetniške namene na področju kmetijstva RS.

## 2 METODE DELA

V okviru širše sistemske analize koriščenja IKT v kmetijstvu je bila opravljena anketna raziskava o koriščenju sodobnih informacijsko-komunikacijskih sredstev na področju kmečkega turizma v RS. V vzorec raziskave je bilo zajetih 96 turističnih kmetij od skupaj 572 registriranih v letu 2006 z območja celotne Slovenije. Splošni del vprašalnika se je nanašal na zbiranje informacij o osnovnih podatkih turističnih kmetij s poudarkom na lokaciji kmetij, prevladujočih kmetijskih in turističnih dejavnostih na kmetijah, obsegu podjetniških aktivnosti in kategorizaciji kakovosti kmetij ter nivoju izobrazbe nosilcev dejavnosti. Posebni del vsebine vprašalnika pa je vključeval vprašanja o poznavanju, uporabi in ovirah pri širjenju IKT, predvsem podjetniško namenjenih spletnih aplikacij na turističnih kmetijah ter koriščenju različnih strategij e-trženja lastnih proizvodov in storitev.

Zbiranje anketnih podatkov v letu 2006 je pretežno potekalo v obliki osebnih obiskov, delno tudi po pošti. Uporabljeni statistični metodi za preverjanje izhodiščnih hipotez sta bili enosmerna analiza variance in HI-kvadrat preizkus. Z enosmerno analizo variance primerjamo aritmetične sredine neodvisnih slučajnih vzorcev meritev ali opazovanj, izbranih iz različnih populacij, medtem ko je metoda HI-kvadrat preizkus namenjena preverjanju verjetnosti razlik med izbrano neodvisno spremenljivko in izbranimi odvisnimi spremenljivkami [2]. Statistična obdelava zbranih podatkov tematskih modulov je bila opravljena s pomočjo računalniškega programa Statistica 8.0. V nadaljevanju je predstavljen le del ključnih rezultatov celotne raziskave.

## 3 REZULTATI

### 3.1 Osnovne značilnosti analiziranega vzorca turističnih kmetij

**Preglednica 1:** Podatki o proučevanih turističnih kmetijah

**Table 1:** Information about the tourist farms analysed

PARAMETER	N	Min.	Max.	X	SD
VELIKOST KMETIJE (v ha)	96	2,50	171,00	41,07	36,29
NADMORSKA VIŠINA (m/n)	96	200	1300	605,11	299,98
ŠTEVILO ČLANOV	96	2,00	11,00	5,31	1,49

Iz preglednice 1 so razvidni osnovni podatki o analiziranih turističnih kmetijah. Izbrani vzorec kmetij pokaže, da je velikost najmanjše kmetije, zajete v raziskavo, 2,5 ha, največje pa 171 ha. Povprečna velikost kmetije znaša 41 ha površine, povprečna nadmorska višina kmetij pa 605 m.

Po oceni nosilcev so prevladujoče dejavnosti na analiziranih kmetijah živinoreja (41 %), sledi turistična dejavnost (23 %) in vinogradništvo (21 %). Pretežno poljedeljsko usmerjenih kmetij je 10 %, sadjarsko usmerjenih pa le 3 %. Največ nosilcev kmetijskih gospodarstev je svoje kmetije

glede na turistično dejavnost, ki jo izvajajo na kmetiji, razvrstilo med turistične (59 %), 29 % med ekološko-turistične, sledijo še izletniške kmetije (12 %).

Med glavnimi dopolnilnimi dejavnostmi, ki potekajo na kmetijah, devetinštirideset anketiranih na prvem mestu navaja ponudbo turističnih kapacitet v obliki sob oziroma ležišč (možnost prenočitve), sledi gostinska ponudba (30 anketiranih), na triindvajsetih turističnih kmetijah ponujajo tudi možnost udejstvovanja v športnih aktivnostih in rekreaciji. Ukvarjanje z domačo obrtjo je kot obliko dopolnilne dejavnosti navedlo trinajst anketirancev. Prevladujejo kmetije, ki so bile kategorizirane oziroma ocenjene s tremi jabolki (57 %), nekaj manj je kategoriziranih kmetij s štirimi jabolki (23 %), kmetije, kategorizirane z enim jabolkom oziroma dvema jabolkoma, so udeležene vsaka z 10 odstotki.

### 3.2 Uporaba IKT na kmetijskih gospodarstvih

Analiza odgovorov kaže, da je velika večina turističnih kmetij (98,5 %) opremljena s stacionarnim telefonom, ki ga ocenjujejo kot osnovno sredstvo komuniciranja. Vse kmetije so opremljene z računalnikom, ki ga uporablja vsaj en član skupnosti. Ugotovljena povprečna doba uporabe računalnika na kmetiji znaša 5,9 let. Poleg opremljenosti s stacionarnim telefonom in z računalnikom, anketiranci pogosto navajajo tudi uporabo mobilnih telefonov in televizijo, tako kabelsko kot satelitsko. Zelo redko pa je zaznati uporabo prenosnih računalnikov in mobilnih telefonov z dostopom do interneta.

Na vprašanje, ali imajo dostop do interneta, 71,4 odstotka anketiranih odgovarja pritrdilno, medtem ko je 28,6 odstotka na to vprašanje odgovorilo negativno. Med glavnimi vzroki, zakaj nimajo dostopa do interneta, na prvem mestu navajajo predvsem pomanjkanje znanja za njegovo uporabo. Na drugem mestu sledi odgovor, da imajo dostop drugje (izven okolja kmetije). Trije izmed anketiranih interneta ne želijo imeti, ker menijo, da je vsebina škodljiva oziroma neuporabna.

Glede na vrsto povezav, ki jih uporabljajo uporabniki interneta, je na prvem mestu dostop preko ISDN priključka (36 %), sledi dostop preko telefonskega modema (28 %), na tretjem mestu je povezava preko ADSL-a (26 %). Samo 2 odstotka uporabnikov navaja, da ima dostop preko kabelskega omrežja.

Na prvem mestu po namenu uporabe interneta anketirani v enakem odstotku (55,7 %) navajajo uporabo za iskanje informacij in spletne storitve ter pošiljanje in sprejemanje e-pošte. Manj jim internet služi kot komunikacijsko orodje (medij) za promocijo svoje turistične kmetije oziroma dejavnosti na njej (48,6 %). Na četrtem mestu po namenu uporabe interneta je e-bančništvo (30,2 %). Sledi uporaba interneta za naročanje in prodajanje blaga in storitev (29,1 %), iskanje informacij o blagu in storitvah (27,1 %), informiranje na spletnih straneh organov državne uprave (20 %), vračanje e-obrazcev organom državne uprave (14,7 %). Druge oblike uporabe, kot so npr. izobraževanje oziroma izpopolnjevanje preko interneta, opravljanje drugih finančnih storitev (npr. trgovanje z vrednostnimi papirji ...), so zastopane v manjšem obsegu (pod 8 %).

Iz preglednice 2 je razvidno, da se za promocijo turizma na kmetijah še vedno največ uporabljajo klasični mediji oglaševanja, v tem primeru pripravljene turistično-informativne brošure. Takšen promocijski material ima v različnem obsegu in variantah vsaka turistična kmetija. Zelo visoko na lestvici zastopanosti se v analiziranem vzorcu turističnih kmetij nahaja tudi že internet (62,9

%). Precejšen delež turističnih kmetij ima izdelan tudi promocijski material v obliki CD-kataloga (40,2 %). Klasični mediji, kot so časopisi, revije, radio in TV, so pri promociji relativno slabo zastopani, v prihodnosti pa lahko pričakujemo še občutnejši trend upadanja njihove uporabe. Uporabe SMS sporočil kot oblike promocije v raziskavi nismo zaznali.

**Preglednica 2:** Mediji promocije na analiziranih turističnih kmetijah  
**Table 2:** Promotion media on tourist farms analysed

Rang	VRSTA MEDIJA	% UPORABE
1.	Promocijsko-informativne brošure	95,7
2.	Internet (lastna spletna stran)	62,9
3.	Časopisi in revije	45,7
4.	ITIS (Integralni turistični info. sistem)	44,3
4.	Turistični sejmi	44,3
6.	CD-katalog	40,2
7.	Direktna pošta	17,1
7.	Radio	17,1
9.	Lokalna TV	11,4
10.	Plakati	4,3
11.	SMS sporočila in ostalo	0,0

### 3.3 Statistična analiza izbranih kategorij spremenljivk v raziskavi

Verifikacije osnovnih hipotez raziskave so bile opravljene z metodo enosmerne analize variance in preizkusa HI-kvadrat. V preglednicah 3 in 4 je eksemplarično predstavljen le po en primer izračuna statistik HI-kvadrat in ANOVA in sicer za eno od izbranih neodvisnih spremenljivk (A6) - izobrazba nosilca dejavnosti na kmetiji v odvisnosti od izbranih dveh odvisnih spremenljivk (B12 in C51).

Razlike so bile statistično značilne. Preostanek statističnih izračunov, kot tudi korelacijska razmerja med odvisnimi spremenljivkami so podrobno in sistematično predstavljeni v primarnem viru raziskave [8].

V nadaljevanju je izpostavljena neodvisna spremenljivka izobrazba nosilca kmetije. Statistično značilne razlike, ugotovljene s pomočjo HI-kvadrat preizkusa so se v raziskavi pokazale pri naslednjih odvisnih spremenljivkah:

- opremljenost kmetije z lastno spletno stranjo (HI-kvadrat=6,47;  $p=0,011$ )
- ocena znanja uporabe računalnika (HI-kvadrat=9,86;  $p=0,002$ )
- pripravljenost na računalniško izobraževanje (HI-kvadrat=11,83;  $p=0,001$ )

**Preglednica 3:** Primer analize odvisnosti spremenljivke (B12) posedovanje lastne spletne strani in neodvisne spremenljivke (A6) izobrazba nosilca kmetije

**Table 3:** Example of dependency analysis for variable (B12) possession of own farm's home page and independent variable (A6) farmer's education

IZOBRAZBA (A6)	B12		Skupaj
	1 - DA	0 - NE	
1 - OŠ, poklicna	21 (35,6)	23 (62,8)	44 (100)
2 - srednja, višja ...	38 (64,4)	14 (37,2)	52 (100)
<b>Skupaj</b>	<b>59</b>	<b>37</b>	<b>96</b>

N = 96

HI-kvadrat: 6,466

D.F. = 1

p = 0,011

C = 0,01

**Opomba:** števila znotraj oklepajev predstavljajo proporcionalne odstotke pridobljenih odgovorov.

**Preglednica 4:** Primer ANOVA odvisnosti spremenljivke (C51) pomen promocije za doseglo boljših tržnih rezultatov od neodvisne spremenljivke (A6) izobrazba nosilca kmetije

**Table 4:** Example of ANOVA dependency for variable (C51) value of promotion for achieving better market results and independent variable (A6) farmer's education

IZOBRAZBA (A6)	N	$\bar{X}$	SD	SN
OŠ oz. POKLICNA	52	4,40	0,63	0,087
SREDNJA, VIŠJA ...	44	4,79	0,46	0,069
<b>SKUPAJ</b>	<b>96</b>	<b>4,58</b>	<b>0,59</b>	<b>0,060</b>

Izvor variabilnosti	Vsota kvadratov	df	Varianca	F	p
Med skupinami	3,65	1	3,65	11,57	0,01
Znotraj skupin	29,67	94	0,31		
<b>SKUPAJ</b>	<b>33,33</b>	<b>95</b>			

**Opomba:** N – numerus,  $\bar{X}$  - aritmetična sredina, SD - standardna deviacija, F - f test,

p - pomembnost testa.

Raziskava vključuje 42 tovrstnih preglednic.

Preglednica 5 prikazuje korelacijska razmerja med izbranimi spremenljivkami [8]. Upoštewane so samo smiselne povezave, ki so vključene v komentar rezultatov. Rezultati kažejo, da se spremenljivka poznavanje osnovnih trženjskih orodij - oglaševanje oziroma promocija (C1.1) najbolj povezuje s možnostjo direktne rezervacije turističnih kapacitet (D4.2), na drugem mestu je povezava z uporabo CD-kataloga kot promocijskega sredstva (negativna korelacija), sledijo direktno plačilo storitev (D4.3), predstavitev turističnih kmetij preko spletnih strani (D4.1), radijsko oglaševanje (D1.12) in uporaba spletnih strani (D1.11), kot kanalov promocije.

**Preglednica 5:** Korelacije med posameznimi spremenljivkami**Table 5:** Correlations between variables

Spr.	C1.1	C1.6	C1.7	C4.6	C4.7	C5.1	C5.3	D2.1	D2.3	D4.1
D1.1	0,295							0,276**	-0,370	
D1.2	-0,860							-0,379*	0,021	
D1.6	0,200								0,398**	
D1.9	-0,474**								0,092	
D1.11	-0,264**								0,122	
D1.12	0,270**								0,062	
D2.1	0,336*									582**
D2.2	0,277*									
D2.3	0,274*	0,209*								0,022
D2.4	-0,057		0,350**							
D2.5	0,097									
D2.6	0,220*									
D2.7	0,232*									
D4.1	0,361**					0,082				
D4.2	0,562**					-0,058	0,074			
D4.3	0,392**					0,060	0,199			
D4.4				0,503**	0,310**	0,000	0,122			
D4.5				0,349**		0,080	0,050			

\* korelacije so statistično pomembne na nivoju  $p = 0,05$

\*\* korelacije so statistično pomembne na nivoju  $p = 0,01$

Pri spremenljivki upravljanje z blagovnimi znamkami (C1.6) smo edino povezavo zaznali s poudarkom promocije blagovnih znamk (D2.1).

Podobne rezultate smo dobili pri proučevanju povezav spremenljivk, poznavanje trženjskih orodij - management kakovosti (C1.7). Edina povezava se je pokazala z ekološko usmerjenostjo kmetije, kot elementom poudarka pri promociji turističnih kmetij (D2.4).

Povezanost med turističnimi delavci (C4.6) se relativno visoko povezuje s parametri e-trženja, povezanost z drugimi institucijami (D4.4) in možnostjo preusmeritve gostov na bližnjo turistično kmetijo (D4.5).

Pri testiranju povezav med promocijo in sodobnostjo ponudbe, kot parametrov za doseganje boljših poslovnih rezultatov in izbranimi spremenljivkami nismo zaznali pomembnejših korelacij.

Poudarjanje turistične kmetije, kot celote (D2.1), se najbolj povezuje s promocijsko-informativnim brošurami, kot materiali za promocijo turističnih kmetij (D1.1) in pa integralnim turističnim informacijskim sistemom ITIS (D1.2).

Poudarek blagovne znamke, kot elementa promocije, kaže največjo korelacijo s promocijskim kanalom lokalna (kabelska) TV (D1.6).

Predstavitev turistične kmetije preko spletnih strani (D4.1), kaže relativno visoko povezanost s poudarjenem turistične kmetije kot celote, pri promocijskih dejavnostih (D2.1).

#### 4 KOMENTAR REZULTATOV

Na podlagi empirične raziskave o koriščenju sodobnih informacijsko-komunikacijskih sredstev na področju kmečkega turizma v RS lahko zaključimo naslednje:

**Opremljenost turističnih kmetij z osnovnimi komunikacijskimi orodji** (telefon, računalnik...) ne zaostaja za drugimi primerljivimi sektorji oz. gospodinjstvi. Razlike se pojavljajo predvsem v vrsti dostopa do interneta, kjer se kaže zaostanek predvsem na področju širokopasovnih dostopov. Delež turističnih kmetij z **dostopom do interneta** (74 %) precej zaostaja za primerljivimi podjetji iz drugih gospodarskih sektorjev (94 – 100 %).

**Namen uporabe interneta** na turističnih kmetijah je še vedno preveč splošen in služi predvsem za iskanje informacij, prejetje in pošiljanje e-pošte, premalo pa se uporablja kot komunikacijsko orodje v promocijske namene, e-bančništvo, sodelovanje z državnimi organi...

Primerjava opremljenosti turističnih kmetij z **lastnimi spletnimi stranmi** pokaže velik zaostanek za primerljivimi slovenskimi podjetji. Spletno stran ima oblikovano samo nekaj več kot 60 odstotkov (62,9 %) turističnih kmetij, medtem ko je delež pri podjetjih 100-odstoten. Zaostanek je viden tudi v primerjavi z drugimi turističnimi podjetji.

Velik **potencial za večjo uporabo interneta** kot medija oglaševanja predstavlja relativno visoka stopnja znanja uporabe računalnika in računalniških orodij s strani nosilcev turističnih kmetij ter pripravljenost vlagati dodatne napore v izobraževanje za pridobitev teh znanj. Kljub temu da je ocena znanja uporabe računalnika zadovoljiva, ugotovitve na drugi strani kažejo, da je poznavanje in **uporaba osnovnih trženjskih orodij** (segmentacija tržišč, pozicioniranje ponudbe, management kakovosti) kakor tudi razvijanje in upravljanje z blagovnimi znamkami relativno slabo.

Višja kot je **izobrazba nosilca kmetije**, bolj so kmetije opremljene z lastnimi spletnimi stranmi. Podobno velja za znanje uporabe računalnika in računalniških programov. Višje izobraženi so se v veliko večji meri pripravljene izobraževati, hkrati pa vidijo v nepripravljenosti potencialnih strank na e-poslovanje veliko manjšo oviro kot tisti z nižjo izobrazbo. Stopnja izobrazbe pomembno diferencira skupine tudi glede ocene pomembnosti promocije oziroma oglaševanja in nujnosti sodobne ponudbe kot parametrov za doseganje dobrih poslovnih rezultatov. Višja kot je stopnja izobrazbe, pogostejša je uporaba elektronskih medijev (spletne strani, kabelska TV ...) v podjetniško-promocijske namene.

Analiza turističnih kmetij v odvisnosti od njihove kategorizacije odkrije obstoj pomembnih razlik na področju strategij komuniciranja s tržiščem, ki se izražajo predvsem pri opredelitvi **pomembnosti e-poslovanja** kot priložnosti za širjenje tržišč in ohranjanje konkurenčnosti, pogostosti uporabe časopisnega oz. revialnega oglaševanja ter pogostosti uporabe CD-nosilcev (CD-katalogov) pri promociji turističnih kmetij. Zavedanje nosilcev turističnih kmetij o pomembnosti e-poslovanja za doseg tržnega uspeha je relativno visoko, kar je dobra osnova za

nadaljnje širjenje tega medija na turističnih kmetijah. Primerjava obsega e-poslovanja (naročil, rezervacij...) preko spletnih strani pokaže, da se je s to obliko poslovanja srečalo že relativno veliko kmetij, vendar je ta delež v primerjavi s celotnim obsegom poslovanja še vedno majhen. Zaznane ovire, ki zmanjšujejo učinkovitost e-poslovanja, se nanašajo predvsem na negotovost pravnih okvirjev, težave glede plačil in nepripravljenost strank na tovrstno poslovanje.

Ugotovljene razlike na področju **strategij trženja turizma na kmetijah** se nanašajo na poudarjanje turistične kmetije kot celote, izpostavljanje kakovosti ponudbe kot elementa promocije, poudarjanje ekološke usmerjenosti in možnosti preusmeritve gostov na bližnjo turistično lokacijo v primeru zasedenosti izbrane. Vsi opisani parametri so statistično značilno bolj izraženi pri kakovostno višje kategoriziranih kmetijah. Posebnih razlik med proučevanima skupinama ni zaznati pri opredelitvi pomembnosti blagovnih znamk in njihovih posameznih lastnosti (prepoznavnost, tradicionalnost, inovativnost), pomembnosti promocije/oglaševanja, nujnosti sodobnosti ponudbe in prijaznosti osebjem ter urejenosti turistične kmetije za doseganje boljših poslovnih rezultatov. Prav tako ni zaznati pomembnega vpliva kategorizacije na opremljenost turističnih kmetij z lastnimi spletnimi stranmi in višino sredstev, ki jo letno namenjajo promociji.

## 5 ZAKLJUČEK

Glavni cilj raziskave je bil v proučitvi razmer in možnosti uporabe oblik e-poslovanja pri trženju proizvodov in storitev turističnih kmetij v RS. Na podlagi rezultatov so v zaključku navedeni predlogi oz. smernice za izboljšanje celostne promocijske podobe in povečanja učinkovitosti trženjskih pristopov turističnih kmetij v RS.

- Dvig izobrazbene strukture nosilcev kmetijskih gospodarstev v okviru ponudbe programov izobraževanja in usposabljanja za pridobitev podjetniških in trženjskih znanj, potrebnih za izboljšavo učinkovitosti e-poslovanja oz. nastopa na t.i. virtualnih trgih.
- Razširjanje in dvig kakovosti ponudbe turističnih kmetij na višjo raven ter sposobnost prilagajanja zahtevam posameznih ciljnih skupin ob zagotavljanju cenovne konkurenčnosti.
- Povečanje finančnih vlaganj v promocijske namene zaradi večje prepoznavnosti turističnih kmetij.
- Krepitev projektne povezovanja turističnih kmetij z organizacijami in programi EU in RS na področju razvoja podeželja.

## 6 VIRI

1. Angherm, A., The strategic Implications of the internet.- The European Institute of Business Administration, France, 1997.
2. Bajt, A., Štiblar, F., Statistika za družboslovce. Ljubljana, GV založba, 2002, s.113–195.
3. <http://www.insead.fr/CALT/Publication/icdt/StrategicImplication.htm> (25. avgust 2007).

4. Hagel, G., Armstrong, G., Net gain: expending markets through virtual communities.- Boston (Mass.), Harvard Business School Press, 1997, s.12–14.
5. Jerman-Blažič B. in sod., Elektronsko poslovanje na internetu. Ljubljana.- Gospodarski vestnik, 2001, s. 206–212.
6. Kovačič, A., Vuksič, V., Management poslovnih procesov: prenova in informatizacija poslovanja.- Ljubljana, GV založba, 2005, s. 144–148.
7. McKeown, P. G., Information Tehnology and the Networked Economy.- Fort Worth: Harcourt College Publishers, 2001, s. 395–397.
8. Petak, B., Možnosti uporabe elektronskih medijev pri trženju turizma na kmetiji.- Magistrsko delo, Fakulteta za kmetijstvo Maribor, 2007, 168 s.
9. Pradel, M., Marketing-Komunikation mit neuen Medien.- Muenchen, Verlag C.H. Beck, 1997, s. 23– 26.
10. Statistični urad Republike Slovenije, Prihodi in nočitve turistov po vrstah krajev in nastavitvenih objektov.- SURS, 2005, [http://www.stat.si/letopis/index\\_letopis.asp](http://www.stat.si/letopis/index_letopis.asp) (15. junij 2006).
11. Waters, M., Globalization.- Routledge, London, 2000, s. 14–15.



**ŽIVETI S PELINOLISTNO AMBROZIJO (*Ambrosia artemisiifolia* L.)**Silvo ŽVEPLAN<sup>1</sup>

UDK / UDC 615.918:581.52 (045)  
strokovni članek / professional article  
prispelo / received: 24.09.2007  
sprejeto / accepted: 28.10.2007

**IZVLEČEK**

V članku je kratko predstavljena pelinolistna ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia* L.). Opisana je problematika ambrozije v svetu in v Sloveniji. Poudarjena je invazivnost in nevarnost ambrozije kot enega najagresivnejših rastlinskih alergenov za zdravje ljudi. Navedeni so ukrepi za preprečitev širjenja ambrozije.

**Ključne besede:** pelinolistna ambrozija, *Ambrosia artemisiifolia* L., rastlinski alergen, razširjenost, ukrepi

**LIVING WITH THE RAGWEED COMMON (*Ambrosia artemisiifolia* L.)****ABSTRACT**

In this article the Ragweed Common (*Ambrosia artemisiifolia* L.) is briefly presented with a description of the problems of the Ragweed Common in Slovenia and worldwide. A great weight is attached to its aggressiveness and danger for human health. Ragweed Common is namely one of the most aggressive allergenic plants. This article represents also different measures for prevention of Ragweed Common spreading.

**Key words:** Ragweed common, *Ambrosia artemisiifolia* L., allergenic pollen, distribution, defensive measures

---

<sup>1</sup> Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec; [silvo.zveplan@ihps.si](mailto:silvo.zveplan@ihps.si)

## 1 UVOD

Ambrozija, pelinolistna (*Ambrosia artemisiifolia* L.), je ena najbolj alergenih rastlin. Ta enoletna rastlina izvira iz južnega dela Severne Amerike od koder se je konec 18. stoletja prenesla tudi v Evropo. Spada med tujerodne invazivne rastlinske vrste. Rastlina je vetrocvetka in v zrak spušča velike količine cvetnega prahu.

### 1.1 Biologija

Rastlina zraste od 1,0 do 1,5 m visoko. Steblo je pokončno, razvejano ter poraslo z gostimi dlakavicami. Listi so deljeni in prav tako dlakavi. Cvetovi so v obliki grozdastega socvetja na vrhu stebela in stranskih poganjkov. Ambrozija cveti od konca julija do konca septembra, odvisno od danih vremenskih razmer. Ena rastlina lahko ima več kot 60.000 semen in s tem od nekaj milijonov do celo nekaj milijard pelodnih zrn. Količina pelodnih zrn je pogojena z vremenskimi razmerami. V sušnih letih je pelodnih zrn več, v mokrih manj. Pelodna zrna imajo odlične aerodinamične lastnosti, saj lahko s pomočjo vetra prepotujejo razdalje tudi večje od 100 km. Največja koncentracija pelodnih zrn je v krogu 1 km okrog rastline. Seme ambrozije ostane kaljivo v tleh tudi več kot 30 let. Hitrost širjenja rastline je od 6 do 20 km na leto.

### 1.2 Razširjenost

V večini evropskih držav je pelinolistna ambrozija že razširjena. Na karantenskem seznamu je v Rusiji, Belorusiji in Ukrajini. Uradno želijo ukrepati proti njej v Litvi in na Poljskem. V teh dveh državah so strokovnjaki pripravili oceno tveganja zaradi širjenja pelinolistne ambrozije, ki jo proučuje Evropska komisija za varno hrano (EFSA) v Parmi. Evropska in mediteranska organizacija za varstvo rastlin (EPPO) je uvrstila pelinolistno ambrozijo na seznam tujerodnih invazivnih rastlin, ki se obravnava v skladu s konvencijo o varstvu rastlin in konvencijo o biološki raznovrstnosti. Za omejevanje širjenja invazivnih rastlin se v skladu z obema konvencijama lahko sprejmejo zadrževalni programi.

Prve najdbe v naši bližini so bile ugotovljene v Podonavju, kjer je ambrozija spremljala pridelavo uvoženih sort žit, lucerne in detelje. V Slovenijo se je prenesla iz Srbije in Hrvaške po drugi svetovni vojni. V okolici Leskovca pri Krškem jo je leta 1950 opazil V. Strgar, nekaj let pozneje A. Filipič v Vipavski dolini, leta 1966 V. Strgar v Petišovcih v Prekmurju, leta 1971 pa jo je našel T. Wraber tudi že v Ljubljani, nato leta 1976 še v Idrijski Beli. Ambrozija je predvsem plevel zapuščenih, neobdelanih površin. Največ jo najdemo ob cestah, železniških progah, ob begovih rek in potokov, na zapuščenih njivah.

V Sloveniji se v zadnjem času pojavlja tudi kot plevel v okopavinah (krompir, koruza). Največje potencialno žarišče ambrozije so zapuščene njive in travniki. Tako ni nič presenetljivega, da so v Evropi največja žarišča ambrozije v Vzhodni Evropi, kjer ja zaradi opuščanja kmetijske pridelave (Madžarska) ter vojn (Bosna in Hercegovina, Hrvaška) veliko zapuščenih polj, kjer se lahko ambrozija nenadzorovano razmnožuje.

### 1.3 Alergenost

Pelod ambrozije je eden najmočnejših znanih alergenov. Alergiki občutljivi na cvetni prah ambrozije, pogosto obolevajo za alergijskim rinitisom, rinokonjunktivitisom, astmo, redkeje pa so reakcije v obliki kontaktnega dermatitisa ali urtikarije. Prag, ki izzove reakcijo je zelo nizek in je v nekaterih primerih tudi pri manj kot 20 pelodnih zrnih/m<sup>3</sup>. Pogoste so tudi navzkrižne reakcije z drugimi alergenimi rastlinami iz rodu ambrozije., bodičem (Xantium sp.), pelinom. Osebe, ki so alergične na cvetni prah ambrozije lahko alergeno reagirajo tudi na cvetni prah nekaterih drugih rastlin (sončnica) in občutijo pekoč občutek v ustih med uživanjem banan.

### 1.4 Simptomi

Alergeno reakcijo prepoznamo po simptomih, kot so vodeni izcedek iz nosa, ščemenje v nosu, kihanje, otečene veke, ščemenje v očeh, oteženo dihanje. Simptome alergijske reakcije je treba zdraviti. Če jih prepoznate pri sebi obiščite zdravnika ali pojdite po nasvet k farmacevtu.

### 1.5 Resnost problema ambrozije

V Kanadi obstaja zakonska obveza za uničevanje ambrozije po vrtovih, saj je v tej državi kar 50-70 % prebivalcev alergičnih na cvetni prah ambrozije. Izvajanje zakona nadzirajo poštarji, ki javljajo policiji, kdo ne izvaja uredbe. Kazni za neupoštevanje te uredbe lahko znašajo tudi preko 1.000 kanadskih dolarjev.

Na Madžarskem so začeli kampanjo boja proti ambroziji že pred nekaj leti. Organizirali so prava tekmovanje za otroke in odrasle. Tistim, ki so nabrali največ rastlin ambrozije, s stebлом in korenino, so dali posebne nagrade, celo počitnikovanja ob Blatnem jezeru. Na Madžarskem je približno polovico prebivalstva alergičnih na cvetni prah ambrozije.

Na Hrvaškem so uvedli projekt uničevanja ambrozije v kar nekaj mestih (Zagreb, Varaždin, Osijek), kjer s pomočjo letakov in preko medijev seznanjajo ljudi s problemom ambrozije. V Zagrebu morajo tako javne kot fizične osebe poskrbeti za uničevanje ambrozije. Za neizvajanje odredbe o uničevanju ambrozije so zagrožene kazni od 200 do 1.000 kun.

Iz Avstrije, Švice, Italije in Francije poročajo o 25-50 % alergikov.

V Sloveniji natančnih podatkov nimamo, vendar se stanje zaradi širjenja ambrozije iz sosednjih držav, kot tudi njenega širjenja znotraj Slovenije, iz leta v leto slabša. Ne glede na to pa v vseh državah, vključno s Slovenijo, izpostavljajo preobčutljivost alergikov na to rastlinsko vrsto kot resen zdravstveni problem. Še pred desetimi leti naj bi bilo v Sloveniji le okoli 10 % alergij povezanih z ambrozijo, medtem ko se je v zadnjih letih ta odstotek po oceni alergologov povečal že na blizu 30 %. Vzrok za tako stanje lahko najdemo predvsem v nenadzorovanem širjenju ambrozije v Sloveniji na nekmetijskih zemljiščih.

**Preglednica 1:** Herbicidi za zatiranje pelinolistne ambrozije (*Ambrosia artemisiifolia* L.)

Pripravek	Aktivna snov	Delež (%)	Uporaba na	Način uporabe	Št. tretiranj	GAP
Banvel 480 S	dikamba -sol	48,0	koruza ( <i>Zea mays</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	0,4 - 0,6 L/ha
Banvel 480 S	dikamba -sol	48,0	parkovne trate športne trate vrtna trata	ko plevel doseže višino 10 do 15 cm	2	0,5 - 1 L/ha
Banvel 480 S	dikamba -sol	48,0	pašnik	tretiranje posameznih gnezd plevela	1	0,25 - 0,5 %
Banvel 480 S	dikamba -sol	48,0	sirek ( <i>Sorghum</i> )	tretiranje po vzniku posevka	1	0,5 L/ha
Banvel 480 S	dikamba -sol	48,0	strnišče	tretiranje pred ali po vzniku plevela	1	1,0 - 1,5 L/ha
Banvel 480 S	dikamba -sol	48,0	travnik	tretiranje posameznih gnezd plevela	1	0,25 - 0,5 %
Basagran DP-P	bentazon diklorprop-P	33,3 23,3	jara, ozimna pšenica ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	3,0 L/ha
Basagran DP-P	bentazon diklorprop-P	33,3 23,3	jari, ozimni ječmen ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	3,0 L/ha
Basagran DP-P	bentazon diklorprop-P	33,3 23,3	navadni oves ( <i>Avena sativa</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	3,0 L/ha
Basagran DP-P	bentazon diklorprop-P	33,3 23,3	ozimna rž ( <i>Secale cereale</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	3,0 L/ha
Equip	foramsulfuron	2,25	koruza ( <i>Zea mays</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	2,0 - 2,5 L/ha
Harmony 75 WG	tifensulfuron-metil	75,0	koruza ( <i>Zea mays</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	10 - 15 g/ha
Harmony 75 WG	tifensulfuron-metil	75,0	pašnik	foliarno tretiranje	1	20 - 30 g/ha
Harmony 75 WG	tifensulfuron-metil	75,0	travnik	foliarno tretiranje	1	20 - 30 g/ha
Lontrel 100	klopiralid	10,0	jara, ozimna pšenica ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	0,9 L/ha
Lontrel 100	klopiralid	10,0	jari, ozimni ječmen ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	0,9 L/ha
Lontrel 100	klopiralid	10,0	koruza ( <i>Zea mays</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	0,6 - 1,0 L/ha
Lontrel 100	klopiralid	10,0	Tritikala ( <i>Triticosecale</i> )	tretiranje po vzniku posevka	1	0,9 L/ha
Mustang 306 SE	2,4-D 2-EHE	45,24	jara, ozimna pšenica ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	0,4 - 0,6 L/ha
Mustang 306 SE	2,4-D 2-EHE	45,24	jari, ozimni ječmen ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	0,4 - 0,6 L/ha
Mustang 306 SE	2,4-D 2-EHE	45,24	koruza ( <i>Zea mays</i> L.)	tretiranje po vzniku posevka	1	0,5 - 0,6 L/ha

### 1.6 Priporočljivi ukrepi za preprečitev širjenja ambrozije pri nas

Če se ambrozija pojavi jo moramo čim prej uničiti. Za uspešen boj je potrebno uničiti rastline pred cvetenjem. Na vrtovih ambrozijo uničujemo s puljenjem rastlin skupaj s koreninami. Za puljenje uporabimo rokavice, saj so stbla ambrozije polna grobih dlačic. Zapuščena, neobdelana, gola zemljišča je potrebno čim prej zasejati s travo in s tem zmanjšati možnost za naselitev ambrozije. Vsekakor je potrebno vse neobdelane površine, kjer že imamo ambrozijo, pogosto kositi. Posebej je pomembno, da ambrozijo pokosimo pred cvetenjem in tako onemogočimo semenitev.

Na obdelanih tleh, predvsem v žitih, koruzi, na travnikih in pašnikih imamo možnost uporabe herbicidov za zatiranje pelinolistne ambrozije, ki so navedeni v spodnji preglednici.

## 2 ZAKLJUČEK

V prispevku je predstavljena invazivnost pelinolistne ambrozije (*Ambrosia artemisiifolia* L.). S problemi, ki jih povzroča ta nevarna rastlina se srečujemo na kmetijskem, zdravstvenem in okoljevarstvenem področju. Z dosedanjim delom na področju osveščanja ljudi, preprečevanja širjenja in priporočenimi ukrepi, v boju z ambrozijo, smo lahko le delno zadovoljni.

V prihodnje bomo morali več dela, znanja in finančnih sredstev nameniti omenjeni problematiki.

## 3 VIRI

1. EWRS Weed Research, 46(2006)2, s.104.
2. <http://www.furs.gov.si/FFS/FFSCD/CD/FFS/36.htm> (5.okt. 2007).
3. <http://www.drwohlmann.com/aktualno/novice/2007071012522795/> (10.jul. 2007).
4. <http://www.invasive.org/> (4. okt. 2006).
5. <http://www.pomurske-lekarne.si/si/index.cfm> (30. sept. 2004).
6. Lešnik, M., Tehnika in ekologija zatiranja plevelov, Ljubljana, Kmečki glas, 2007, s. 186-223.
7. Šarić, T., Atlas korova, Sarajevo, Svetlost OOUR Zavod za udžbenike, 1978, s. 20-21.