

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

Hmeljarski bilten Hop Bulletin

22(2015)



Žalec, 2015

Izdaja / Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) /
Issued by Slovenian Institute of Hop Research and Brewing (IHPS)
Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenija / Slovenia

Urednici / dr. **Barbara Čeh** in doc. dr. **Andreja Čerenak**
Editors

Uredniški odbor / dr. **Barbara Čeh** (IHPS), doc. dr. **Andreja Čerenak** (IHPS), prof. dr.
Editorial Board **Anton Ivančič** (Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Univerze
v Mariboru / Faculty of Agriculture and Life Sciences University of
Maribor.), izr. prof. dr. **Jernej Jakše** (Biotehniška fakulteta Univerze v
Ljubljani / University of Ljubljana, Biotechnical Faculty), prof. dr.
Branka Javornik (Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani /
University of Ljubljana, Biotechnical Faculty), doc. dr. **Iztok Jože**
Košir (IHPS), dr. **Karel Krofta** (Hop Research Institute, Žatec,
Češka), doc. dr. **Rok Mihelič** (Biotehniška fakulteta Univerze v
Ljubljani / University of Ljubljana, Biotechnical Faculty), izr. prof. dr.
Martin Pavlovič (IHPS), dr. **Sebastjan Radišek** (IHPS), dr. **Elisabeth**
Seigner (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft / Bavarian State
Research Center for Agriculture, Freising, Germany), dr. **Siniša Srečec**
(Visoko gospodarsko učilište u Križevcima, Hrvaška / College of
Agriculture at Križevci, Croatia), prof. dr. **Anton Tajnšek** (emeritus),
prof. dr. **Dominik Vodnik** (Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani
/ University of Ljubljana, Biotechnical Faculty)

Naslov Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, Slovenija;
uredništva/ e-pošta/e-mail: barbara.ceh@ihps.si / andreja.cerenak@ihps.si
Address of Editor

Prispevki so najmanj dvojno recenzirani. Za jezikovno pravilnost
odgovarjajo avtorji. / Papers are reviewed and revised. Authors are
fully responsible for proper linguistic structure of the text.

Domača stran / <http://www.ihps.si>
Home page

Bilten zajemajo / COBISS, AGRIS, CABI Publishing, EBSCO Publishing
Indexed and
abstracted by

Tisk / Birografika Bori d. o. o.
Printed by

Avtorske pravice / © 2015 Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije /
Copyright © 2015 Slovenian Institute of Hop Research and Brewing

VSEBINA / CONTENTS

Vida REZAR, Alenka LEVART, Iztok Jože KOŠIR, Andreja ČERENAK in Janez SALOBIR Vpliv dodatka hmelja na oksidacijo krmnih mešanic in oksidativni stres piščancev pitancev Influence of hops supplementation on feed mixtures oxidation and oxidative stress of broilers.....	5
Kristina MARTON in Sebastjan RADIŠEK Taksonomija rodu <i>Verticillium</i> in določanje fitopatogene glive <i>Verticillium albo-atrum</i> / Taxonomy of genus <i>Verticillium</i> and determination of phytopathogenic fungus <i>Verticillium albo-atrum</i>	15
Tanja GUČEK, Nataša ŠTAJNER in Sebastjan RADIŠEK Kvantifikacija in določanje glive <i>Verticillium albo-atrum</i> v hmelju (<i>Humulus lupulus</i>) z uporabo PCR v realnem času / Quantification and detection of <i>Verticillium albo-atrum</i> in hop (<i>Humulus lupulus</i>) with real-time PCR.....	26
Magda RAK CIZEJ, Alenka FERLEŽ RUS in Iris Škerbot Populacija ameriškega škržatka (<i>Scaphoideus titanus</i> Ball) na območju celjske regije / The population of the american grapevine leafhopper (<i>Scaphoideus titanus</i> Ball) in the Celje region.	40
Barbara ČEH in Bojan ČREMOŽNIK pH tal in pridelek hmelja (<i>Humulus lupulus</i>) glede na odmere apnenih gnojil / Soil pH and hop (<i>Humulus lupulus</i>) yield related to liming material rate.....	49
Pavel DONNER, Josef JEŽEK in Jaroslav POKORNÝ Training materials used in a hop production in the Czech Republic / Vodila v pridelavi hmelja na Češkem	58

Boštjan NAGLIČ

Vrednotenje delovanja nizko cenovnega senzorja za meritve količine vode v tleh

/ Evaluation of a low-cost sensor for soil moisture monitoring.....66

Rozalija CVEJIĆ, Vesna ZUPANC in Marina PINTAR

Primerjava razvoja namakanja v Sloveniji z globalnim trendom

/ Development of irrigation in Slovenia from a global perspective.....74

Nataša FERANT in Barbara ČEH

Vpliv uporabe pripravkov za krepitev rastlin na rast in razvoj sadik različnih zelišč

/ The impact of plant growth promoting products on growth and development of seedlings of various herbs.....86

Martin PAVLOVIČ in Tatjana DRINOVEC

Poslovne priložnosti za ekološko kmetijstvo v Sloveniji

/ Business opportunities for organic farming in Slovenia.....93

Martin PAVLOVIČ in Tatjana DRINOVEC

Tržna ponudba ekoloških živil na območju Gorenjske

/ Market supply of organic foodstuffs in the Gorenjska region99

VPLIV DODATKA HMELJA NA OKSIDACIJO KRMNIH MEŠANIC IN OKSIDATIVNI STRES PIŠČANCEV PITANCEV

Vida REZAR¹, Alenka LEVART², Iztok Jože KOŠIR³, Andreja ČERENAK⁴ in
Janez SALOBIR⁵

Izvirni znanstveni članek / original scientific article

Prispelo / received: 20. oktober 2015

Sprejeto / accepted: 7. december 2015

Izveček

Raziskali smo vpliv dodatka hmeljevih storžkov na oksidacijsko stabilnost krmnih mešanic med njihovim skladiščenjem in na oksidativni status pitovnih piščancev. V prehranskem poskusu smo 84 piščancev pitancev ross 308 razdelili v 3 poskusne skupine. S krmo so piščanci zaužili 7,5 % lanenega olja, ki je bogat vir večkrat nenasičenih maščobnih kislin (VNMK) in s tem povzročili povečan oksidacijski stres. V krmne mešanice smo dodali nič (kontrolna skupina, KONT) oz. 0,9 (HMELJ_0,9) ali 3,6 (HMELJ_3,6) g hmelja/kg krmne mešanice. Poskus obstojnosti α - in β -kislin v hmelju in krmnih mešanicah med staranjem je pokazal, da je zelo pomembna temperatura skladiščenja in sorta hmelja. Spremljali smo oksidacijo nenasičenih maščobnih kislin v krmnih mešanicah ter vpliv dodatka hmelja na oksidacijo lipidov v krvni plazmi piščancev, ki smo jo ovrednotili s spremljanjem koncentracije malondialdehida (MDA), sekundarnega produkta oksidacije večkrat nenasičenih maščobnih kislin. V krmnih mešanicah finišer smo izmerili višjo koncentracijo MDA kot v krmnih mešanicah štarter. Najvišjo koncentracijo MDA smo določili v skupini HMELJ_3,6, kar je posledično vplivalo tudi na povečano oksidacijo lipidov in koncentracijo MDA v krvni plazmi piščancev. Glede na vsebnost MDA v krmnih mešanicah in v krvni plazmi piščancev smo ugotovili, da v krmnih mešanicah, obogatenih z VNMK, hmelj deluje prooksidativno.

Ključne besede: oksidativni stres / piščanci pitanci / hmelj / oksidacija / krmne mešanice

INFLUENCE OF HOPS SUPPLEMENTATION ON FEED MIXTURES OXIDATION AND OXIDATIVE STRESS OF BROILERS

Abstract

The influence of the addition of hop cones on oxidative stability of feed mixtures during their storage and on oxidative status of broilers was investigated. 84 chickens Ross 308 were divided in 3 experimental groups in the nutritional experiment. With feed the chickens consumed 7.5% linseed oil, which is a rich source of polyunsaturated fatty acids (PUFA), thereby causing an increase in oxidative stress. No hops (control group, KONT), 0.9 (HMELJ_0,9) or 3.6 (HMELJ_3,6) hops g/kg feed was added in feed mixtures. Stability testing of α - and β -acids in hops and feed mixtures during aging has

¹ Doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Katedra za prehrano, Groblje 3, 1230 Domžale, e-pošta: vida.rezar@bf.uni-lj.si

² Asist. dr., prav tam, e-pošta: alenka.levart@bf.uni-lj.si

³ Doc. dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za agrokemijo in pivovarstvo, Cesta žalskega tabora 2, 3310 Žalec, e-pošta: iztok.kosir@ihps.si

⁴ Doc. dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za rastline, tla in okolje, Cesta žalskega tabora 2, 3310 Žalec, e-pošta: andreja.cerenak@ihps.si

⁵ Prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Katedra za prehrano, Groblje 3, 1230 Domžale, e-pošta: janez.salobir@bf.uni-lj.si

shown that storage temperature and hop variety are very important factors. We monitored the oxidation of unsaturated fatty acids in feed mixtures and effect of hop addition on the oxidation of lipids in the chickens blood plasma, which was evaluated by monitoring the concentration of malondialdehyde (MDA), a secondary product of the oxidation of polyunsaturated fatty acids. In feed mixtures finisher higher concentration of MDA was measured in comparison to feed mixtures starter. The highest concentration of MDA was determined in the feed mixture HMELJ_3,6, which induced oxidation of lipids and increased the concentration of MDA in the blood plasma of chickens. Depending on the content of MDA in feed mixtures and in the chickens' blood plasma, we found that in the PUFA enriched feed, hop acts as prooxidant.

Key words: oxidative stress / broilers / hops / oxidation / feed mixtures

1 UVOD

Prehrana živali ima pomemben vpliv na njihovo zdravje in proizvodnost. Maščobe v krmo dodajamo predvsem kot vir energije. Uporabljamo zlasti rastlinska olja, ki so bogata tudi z večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami (VNMK). Še posebej veliko VNMK je v krmnih mešanicah piščancev pitancev in kokoši, ko želimo kreirati funkcionalna živila (meso ali jajca), obogatena s trikrat nenasičenimi maščobnimi kislinami (n-3 VNMK). Neprimerno skladiščenje z n-3 VNMK obogatenih krmnih mešanic lahko vodi do oksidacije nenasičenih maščob v krmi. Pri tem nastajajo produkti, kot so lipidni peroksidi, aldehidi, ketoni idr., ki so za živali in ljudi toksični. Za zaščito krme in organizma pred oksidacijo dodajamo v krmne mešanice antioksidante. Pravilno razmerje med antioksidanti in prooksidanti v prebavnem traktu, plazmi in tkivih je namreč odločilno za vzdrževanje zdravja (Surai in Dvorska, 2002). Zaradi želje porabnikov po uporabi naravnih krmnih dodatkov, postaja uporaba rastlinskih učinkovin, različnih rastlinskih ekstraktov in čistih naravnih rastlinskih bioaktivnih snovi vse bolj zanimiva v primerjavi s sintetičnimi antioksidanti, ki jih nekateri potrošniki zavračajo. Kot vir antioksidativne in antimikrobne zaščite lahko morda uporabimo tudi hmelj. Ključno vlogo pri antioksidativnem delovanju hmelja imajo polifenoli (ksantohumol, izoksanthumol in prenilnaringenini), ki so znani po antioksidativnih, antimikrobnih, antimutagenih lastnostih, delujejo pa tudi protivnetno. Hmelj vsebuje tudi druge sekundarne metabolite, med katere štejemo grenčične α - in β -kislino, za katere pa je znano antimikrobno delovanje (Cornelison in sod., 2006; Krofta in sod., 2008; Van Cleemput in sod., 2009). Medtem ko je antioksidativna in antimikrobna učinkovitost hmelja dobro poznana v pivu (Stavri in sod., 2004), pa je antioksidativno delovanje hmelja pri domačih živalih po našem vedenju popolnoma neraziskano. Jakovljević in sod. (2008) so pri miših, katerim so dodajali hmelj, ugotovili izboljšano antioksidativno zaščito jeter. Tudi ob dodatku etanola podganam se je ksantohumol izkazal kot učinkovita zaščita pred nastankom poškodb jeter (Pinto in sod., 2014). Antioksidanti hmelja imajo vlogo tudi pri zaščiti pred razvojem rakavih obolenj. Nekoliko več se pri domačih živalih ve o protimikrobnih učinkih hmelja; tako dodajanje grenčičnih kislin hmelja pri piščancih zmanjša prisotnost bakterije *Clostridium perfringens* v prebavilih (Tillman in sod., 2011). O vplivu hmelja na oksidativno stabilnost krme v literaturi nismo našli podatkov.

Namen raziskave je bil ugotoviti ali dodatek zmletih storžkov hmelja v krmne mešanice za piščance pitance v različnih koncentracijah (0,9 ali 3,6 kg/t krmne mešanice) vpliva na oksidativno stabilnost in maščobnokislinsko sestavo krmnih mešanic starter in finiše in kakšen je vpliv dodatkov na oksidativni status krvne plazme piščancev, ki smo ga spremljali z

merjenjem sekundarnega produkta oksidacije VNМК, malondialdehida. Istočasno smo želeli ugotoviti vpliv krme na stabilnost beta-kislin hmelja.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Sestava krmnih mešanic

Pripravili smo osnovne krmne mešanice (preglednica 1) za piščance pitance in sicer za prvo obdobje pitanja do 20. dne štarter in za drugo obdobje pitanja od 21. dne do zakola finišer. Obe krmni mešanici sta vsebovali 7,5 % lanenega olja in 10 IU vitamina E na kg (KONT). V krmni mešanici smo dodali 0,9 g (HMELJ_0,9) oziroma 3,6 (HMELJ_3,6) g hmelja na kg mešanice.

Preglednica 1: Sestava poskusnih krmnih mešanic za pitovne piščance (g/kg)

Table 1: Experimental feed mixtures for broilers (g/kg)

	Štarter (g/kg)			Finišer (g/kg)		
	KONT	HMELJ_0,9	HMELJ_3,6	KONT	HMELJ_0,9	HMELJ_3,6
Koruza	190,00	189,10	186,40	270,00	269,10	266,40
Pšenica	300,00	300,00	300,00	284,10	284,10	284,10
Sojine tropine	384,94	384,94	384,94	332,36	332,36	332,36
Laneno olje	75,00	75,00	75,00	75,00	75,00	75,00
Apnenec	13,16	13,16	13,16	10,63	10,63	10,63
Monodikalcije vfosfat	20,87	20,87	20,87	16,46	16,46	16,46
Sol	4,35	4,35	4,35	4,36	4,36	4,36
L-liz.-HCl ¹	2,25	2,25	2,25	0,07	0,07	0,07
DL-metionin ²	3,39	3,39	3,39	2,02	2,02	2,02
L-treonin ³	1,04	1,04	1,04	-	-	-
Premiks	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Hmelj	-	0,90	3,60	-	0,90	3,60

¹ L-lizin-HCl je vseboval 78,8 % lizina; ² DL-metionin je vseboval 98 % metionina; ³ L-treonin je vseboval 98 % treonina

Dodani premiks (mineralno vitaminski dodatek) smo pripravili po priporočilih za rejo piščancev ross 308 za krmne mešanice grover (Ross 308 Nutrition specification, 308). Količino vitamina E smo dodali po priporočilih NRC (1994), 10 IU/kg. Za vse skupine in obe popolni krmni mešanici (štarter, finišer) je bila sestava premiksa enaka. Iz vsake krmne mešanice smo odvzeli vzorce krme za določanje maščobnokislinske sestave (preglednica 2). Analizirali smo tudi hmelj, ki smo ga do analiz shranili v hladilniku.

Preglednica 2: Maščobnokislinska sestava krmnih mešanic in hmelja (g maščobne kisline/100 g vsote maščobnih kislin)

Table 2: Fatty acid composition of feed mixtures and hops (g fatty acid/100 g sum of fatty acids)

	Štarter			Finišer			Hmelj
	KONT	HMELJ_0,9	HMELJ_3,6	KONT	HMELJ_0,9	HMELJ_3,6	
C16:0	7,65	7,91	7,81	7,91	7,79	7,71	11,15
Vsota C18:1	17,64	18,41	18,10	18,91	18,44	18,43	6,5
C18:2 n-6	25,50	25,64	25,23	26,74	25,38	25,57	31,61
C18:3 n-6							3,55
C18:3 n-3	44,85	43,17	44,12	41,74	43,59	43,66	17,53
NMK	11,50	12,15	12,00	12,10	12,04	11,80	25,49
ENMK	18,04	18,92	15,50	19,30	18,88	18,85	20,53
VNMK	70,46	68,92	69,50	68,60	69,08	69,34	53,98
n-3 VNMK	44,90	43,21	44,20	41,8	43,64	43,71	18,57
n-6 VNMK	25,57	25,71	25,30	26,80	25,45	25,64	35,41
n-6/n-3 VNMK	0,57	0,59	0,60	0,60	0,58	0,59	1,91

2.2 Hmelj kot dodatek krmi

Kot dodatek krmnim mešanicam smo uporabili hmelj, ki je bil pridelan na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. Izbrali smo mešanico križancev hmelja 94/127 in 108/78 v razmerju 50:50. Križance smo izbrali glede na vsebnost β -kislin in glede na antioksidativno kapaciteto v maščobah (ACL) in v vodi topnih (ACW) antioksidantov. Posušene storžke hmelja smo zmleli v mlinu kladivarju in jih vmešali v osnovni krmni mešanici.

2.3 Prehranski poskus

V prehranski poskus smo vključili 84 en dan starih pitovnih piščancev petelinčkov provenience ross 308. Ob vhlevitvi smo jih stehtali in razdelili v tri skupine po 28 živali. Živali smo ves čas poskusa (37 dni) krmili s poskusnimi krmnimi mešanicami (preglednica 1) po volji.

2.4 Oksidativna stabilnost krme, določanje malondialdehida v vzorcih krme

Za določanje MDA v krmnih mešanicah in hmelju smo v plastično epruveto s pokrovčkom odtehtali 100 mg vzorca, nato smo odpipetirali 0,5 ml raztopine dibutilhidroksitoluena (BHT) v metanolu in 1,0 ml 5 % raztopine triklorocetne kisline (TCA). Epruvete smo dobro zaprli in jih za 15 min namestili v vrtničnik (vorteks), po mešanju smo jih za 15 min prenesli v centrifugo in centrifugirali pri 15000 obratih/min in 4 °C. Za derivatizacijo smo 0,75 ml supernatanta iz plastične epruvete prenesli v stekleno epruveto, kamor smo dodali še 1,5 ml raztopine tiobarbiturne kisline (TBA). Epruvete smo dobro zaprli in prenesli v grelni blok za

60 min pri 90 °C. Po derivatizaciji smo epruvete ohladili z mrzlo vodo. Derivatizirane vzorce smo prefiltrirali skozi filter s porami 0,45 mm v steklene vialne in analizirali s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC).

2.5 Določanje malondialdehida v vzorcih krvne plazme

Na koncu poskusa smo živali žrtvovali in odvzeli vzorce krvi. Za določanje MDA v krvni plazmi smo uporabili metodo, ki jo navajajo Wong in sod. (1987), z modifikacijami po Chirico (1994) in Fukunaga in sod. (1995) in lastnimi modifikacijami.

2.6 Določitev vsebnosti α - in β -kislina v hmelju in krmnih mešanicah med shranjevanjem

Obstojnost hmelja smo spremljali zaradi pridobitve primerjalnih vrednosti staranja čistega hmelja glede na dodatek hmelja v krmni mešanici, ter s tem na možnost ocene vpliva same krme na stabilnost β - in α -kislina.

Izbrali smo dve sorti hmelja (Aurora in Dana) ter dva križanca iz žlahtniteljskega programa z oznakama 94/127 in 108/78, ki smo jih uporabili tudi v poskusnih krmnih mešanicah.

Izbor sort in križancev je bil narejen:

- na osnovi višjih vsebnosti β -kislina (izbrana je bila sorta Dana ter mešanica dveh križancev z oznako 94/127 in 108/78) in
- na osnovi zadostnih proizvedenih količin oz. trenutnih zalog v Sloveniji (sorta Aurora), v primeru da bi hmelj tudi v praksi začeli uporabljati v prehrani živali.

Vsebnost β - in α -kislina je bila določena s tekočinsko kromatografijo (HPLC), po Analytica-EBC 7.7 (2005). Vlaga v vzorcih je bila določena z metodo po Analytica EBC 7.2 (1997).

Obstojnost β - in α -kislina smo spremljali v krmnih mešanicah, pripravljenih v razmerju hmelj:mešanica = 1:4, pri čemer so bile mešanice shranjene v idealnih skladiščnih pogojih pri 4 °C in pri temperaturi okolja pri 20 °C. Hkrati s krmnimi mešanicami, ki smo jim dodali hmelj, smo spremljali tudi obstojnost hmeljnih smol v čistem hmelju, da smo dobili verodostojno primerjavo rezultatov analiz. V vseh primerih je bil vzorcem omogočen dostop zraka.

Meritve smo izvajali 8 tednov (v razmiku 2 tednov), kolikor je tudi pričakovani čas skladiščenja krmnih mešanic v praksi.

2.7 Statistična obdelava podatkov

Za statistično obdelavo podatkov o koncentraciji MDA v plazmi smo uporabili programski paket SAS/STAT (SAS 8e, 2000, ZDA). S proceduro UNIVARIATE smo testirali normalnost porazdelitve podatkov, s proceduro MEANS pa smo izračunali statistične parametre. Za obdelavo podatkov s statističnim modelom smo uporabili proceduro GLM (General Linear Models). Razlike med skupinami smo ovrednotili s pomočjo linearnih kontrastov in Tukeyevega testa. Razlike so bile statistično značilne pri $P \leq 0,05$.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

Prehrana živali je zelo pomembna, saj vpliva na zdravje živali, kakovost njihovih proizvodov, posredno pa tudi na zdravje ljudi in zaščito okolja. Poznane so številne raziskave o učinkovitosti antioksidantov naravnega izvora, zato smo v naši raziskavi preizkusili učinkovitost hmelja, ki je bogat vir polifenolov in α - ter β -kislín. Zaradi dodatka 7,5 % lanenega olja je bila krma bogata z n-3 VNМК. Te vrste maščobnih kislin so oksidacijsko zelo nestabilne. Hmelj, kot dodatek krmi, so v raziskavah na živalih preučevali predvsem zaradi njihovih antibakterijskih lastnosti (Stavri in sod., 2004; Cornelison in sod., 2006), medtem ko je o njegovi antioksidativni učinkovitosti pri živalih bolj malo znanega. Hmelj vsebuje terpene, grenčične kisline in halkone. Je tudi bogat vir flavonil glikozidov (kampferol, kvercetin, kvercitrin, rutin) (Sägesser in Deinzer, 1996) in katehinov (katehin galat, epikatehin galat) (Gorissen in sod., 1968). Njegova učinkovitost je seveda odvisna tudi od količine dodatka, v naši raziskavi smo uporabili dve koncentraciji in sicer 0,9 in 3,6 g/kg krme, ki smo ju izbrali glede na predhodne raziskave.

3.1 Oksidativna stabilnost krme, koncentracija MDA v krmni mešanici in hmelju

Krma z veliko vsebnostjo maščob nudi živalim dobro pokritje potreb po energiji, vendar je občutljiva na oksidacijo. Z dodajanjem antioksidantov upočasnimo kvarjenje in podaljšamo obstojnost krmnih mešanic, pri tem pa ostaja hranilna vrednost krmnih mešanic velika, ohranijo se barva, vonj in okus (Frankič in Salobir, 2007). Obseg oksidacije v krmnih mešanicah in hmelju smo merili s koncentracijo MDA. Določili smo koncentracijo MDA v vseh krmnih mešanicah na začetku poskusa ter v hmelju, ki je bil shranjen na dva načina, v zamrzovalniku pri - 80 °C in v hladilniku pri 4 °C. Med krmnimi mešanicami šarterja smo ugotovili manjše razlike v vsebnosti MDA. Najnižjo koncentracijo smo izmerili v skupini KONT (106 nmol/g oz. 7,6 mg/kg), med skupinama HMELJ_0,9 in HMELJ_3,6 (135 nmol/g oz. 9,7 mg/kg) ni bilo razlik. Do drugačnih ugotovitev smo prišli pri analizi krmnih mešanic finišerja. Krmna mešanica skupine KONT je vsebovala najmanj MDA (60 nmol/g oz. 4,3 mg/kg), skoraj dvakrat več ga je vsebovala krmna mešanica skupina HMELJ_0,9 (124 nmol/g oz. 8,9 mg/kg), največ pa krma skupine HMELJ_3,6 (154 nmol/g oz. 11,1 mg/kg). Če primerjamo rezultate vsebnosti MDA v krmnih mešanicah z analizami krmnih mešanic, obogatenih z n-3 VNМК iz drugih prehranskih poskusov, ki smo jih izvedli, so bile koncentracije primerljive. V krmi za piščance pitance z dodanimi 7 % lanenega olja so izmerili 118 nmol/g oz. 8,5 mg MDA/kg (neobjavljeni rezultati), v krmni mešanici za kokoši nesnice z dodanimi 6 % lanenega olja pa 53 nmol/g oz. 4,5 mg MDA/kg (Kenda, 2014). Krmne mešanice, predvsem z velikim deležem maščob, s staranjem lahko hitreje oksidirajo. Kenda (2014) je izmerila več s TBA reagirajočih spojin v starani krmi kot sveži. V poskusu so v krmo dodali 6 % laneno olje in 10 IU vitamina E. Za zaščito krme so uporabili različne antioksidante (višjo koncentracijo vitamina E (150 IU), sintetični antioksidant ter oljčne liste in pulpo). Na podlagi rezultatov navaja oljčne liste in pulpo kot najbolj obetajoč naravni antioksidant za zaščito krme. Tudi v zmletem hmelju je bila koncentracija MDA različna glede na način shranjevanja. V svežem hmelju (shranjenem na - 80 °C) smo izmerili 40,43 nmol/g oz. 2,9 mg/kg, v hmelju skladiščenem 3 mesece v hladilniku pri 4 °C pa 65,10 nmol/g oz. 4,7 mg/kg. Slabšo antioksidativno sposobnost in zmanjšanje vsebnosti α -kislín v hmelju so med skladiščenjem v hladnem okolju ugotovili tudi Krofta in sod. (2008). Zmanjšanje avtorji pripisujejo povečanemu deležu vlage, ki negativno vpliva na polifenolne molekule in s

tem poslabša antioksidativno učinkovitost. Kot omenjeno, so hmeljeve kisline zelo občutljive na oksidacijo v času skladiščenja. Tako se struktura α - in β -kislin spremeni, izgubijo izoprenilno verigo, poleg tega pa nastajajo tudi druge kemične spojine, katerih vsebnosti še niso dobro znane. Steenackers in sod. (2015) prav tako navajajo, da v hmelju v času skladiščenja hitro pride do avtooksidacije nenasičenih maščobnih kislin.

3.2 Spreminjanje vsebnosti α - in β -kislin v hmelju in krmnih mešanicah med skladiščenjem

Iz meritev smo ugotovili, da je bil v primeru skladiščenja hmelja sorte Aurora, po dveh mesecih padec α -kislin približno 10 % in padec β -kislin približno 6 %, ne glede na temperaturo skladiščenja. V primeru skladiščenja krmne mešanice z dodanim hmeljem pri temperaturi okolja (20 °C) je znašal padec α - in β -kislin kar 33 % oziroma 30 %. V primeru skladiščenja krmne mešanice z dodanim hmeljem sorte Aurora pri 4 °C je bil padec α - in β -kislin okoli 25 %.

Rezultati padca učinkovin pri sorti Dana so pokazali, da je bil delež zmanjšanja α - in β -kislin v hmelju, skladiščnem pri 20 °C 13 %, medtem ko je bil ta delež pri hmelju hranjenem pri 4 °C, občutno manjši in je znašal samo 9 oziroma 6 %. Primerjalno je znašal ta padec v krmnih mešanicah med 23 in 25 % za α in β -kislino, neodvisno od razmer pri skladiščenju.

V primeru spremljanja α -kislin pri vzorcu mešanice križancev z oznako 94/127 in 108/78 je prišlo do 4 oziroma 8 % padca, odvisno od temperature skladiščenja (4 °C oz. 20 °C). Zelo zanimivo pa je, da so ostale vsebnosti β -kislin, ne glede na režim skladiščenja v 2 mesecih praktično skoraj nespremenjene, kar kaže na zelo dobre skladiščne karakteristike križancev. V primeru skladiščenja krmnih mešanic pri 20 °C je prišlo do 36 % zmanjšanja α -kislin in do 28 % padca β -kislin. Zelo zanimiv je rezultat, da pri skladiščenju pri 4 °C pride do komaj 13 % padca vsebnosti α -kislin in samo 8 % zmanjšanja vsebnosti β -kislin.

3.3 Koncentracija MDA v krvni plazmi piščancev

Kot smo ugotovili že v naših prejšnjih raziskavah (Rezar in sod., 2006), lahko na koncentracijo MDA v plazmi vpliva tudi njegova koncentracija v krmi, kar ima lahko negativne posledice za zdravje živali. Poznano je, da α - in β -kislino v hmelju med skladiščenjem zelo hitro oksidirajo, vendar je malo znanega o oksidacijskih produktih in vsebnostih med skladiščenjem, ker nastali kompleksi oksidativnih produktov motijo identifikacijo sestavin (Taniguchi in sod., 2013). Zato nas je v naši raziskavi zanimalo tudi ali dodatek hmelja v dveh različnih koncentracijah vpliva na oksidacijski stres v organizmu živali. Lipidno oksidacijo, ki je lahko posledica ali vzrok oksidacijskega stresa, smo merili z določanjem koncentracije malondialdehida (MDA) v krvni plazmi s HPLC (preglednica 3).

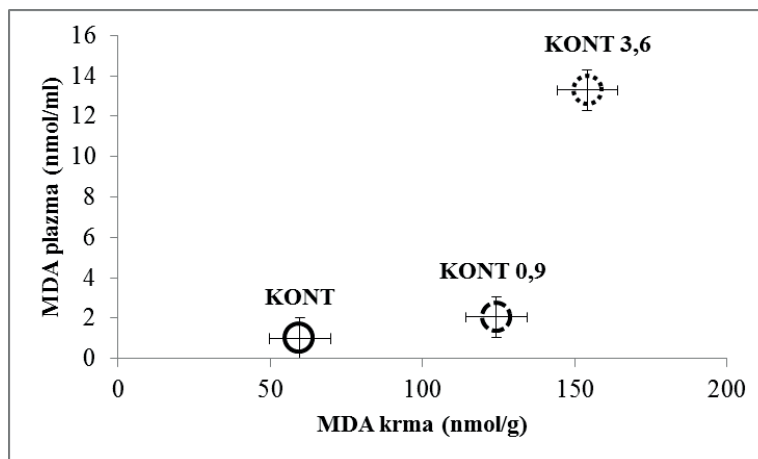
MDA je sekundarni produkt oksidativne razgradnje VNMK in biosinteze prostaglandinov. Določanje MDA je ena najpogostejših metod za ugotavljanje lipidne oksidacije v bioloških vzorcih (Nielsen in sod., 1997). Raziskave na prašičih (Rezar in sod., 2003) in piščancih (Voljč in sod., 2011) so pokazale, da prekomerno uživanje lanenega olja, ki je bogato z VNMK, poveča obseg lipidne oksidacije v organizmu. V naši raziskavi je bila koncentracija

MDA v plazmi, ki je dobivala najvišjo koncentracijo hmelja statistično značilno višja kot v kontrolni skupini in skupini, ki je dobivala dodatek 0,9 g hmelja/kg. Rezultati naše raziskave kažejo prooksidativno delovanje dodatka visoke koncentracije hmelja (3,6 g hmelja/kg). V literaturi nismo našli raziskav o vplivu hmelja na oksidacijski stres organizma. Če pogledamo povezavo med koncentracijo MDA v krmi in koncentracijo MDA v krvni plazmi (slika 1), vidimo, da koncentracija 0,9 g/kg hmelja v krmni mešanici ne povzroči bistvenega povečanja sekundarnih produktov oksidacije VNMK v plazmi, medtem ko je to povečanje bistveno višje pri dodani koncentraciji 3,6 g hmelja /kg krmne mešanice.

Preglednica 3: Rezultati analiz MDA v plazmi (LSM ± standardna napaka)

Table 3: Results of MDA analyses in plasma (LSM ± standard error)

	KONT	HMELJ_0,9	HMELJ_3,6	p
MDA (nmol/ml)	1,0 ± 0,6 ^a	2,1 ^b ± 0,6	13,3 ^c ± 0,6	< 0,001



Slika 1: Povezava med koncentracijo MDA v krmi in MDA v krvni plazmi petelinčkov provenience ross 308

Picture 1: Relation between the MDA concentration in feed and the MDA concentration in plasma

Rezultati analize sekundarnih produktov oksidacije VNMK v krmnih mešanicah z dodatkom hmelja kažejo, da hmelj vsebuje tudi snovi, ki v krmnih mešanicah z visoko vsebnostjo VNMK delujejo prooksidativno.

4 SKLEPI

V raziskavi smo preučevali vpliv dodatka dveh koncentracij storžkov hmelja v krmo za piščance pitance. Oksidativni stres smo izzvali z dodatkom 7,5 % lanenega olja, ki je bogat vir VNMK. V krmni mešanici finišer je bila koncentracija MDA najvišja v skupini z dodano največjo količino hmelja 3,6 g/kg krmne mešanice, kar je verjetno vplivalo tudi na koncentracijo MDA v krvni plazmi živali, ki je bila v tej skupini tudi statistično značilno najvišja. Na podlagi rezultatov raziskave in že objavljenih raziskavah o hmeljevi občutljivosti

na oksidacijo lahko ugotovimo, da hmelj v krmnih mešanicah, ki so obogatene z VNMK deluje prooksidativno in poveča oksidativni stres pri piščancih. V tem primeru bi bilo priporočljivo krmo dodatno zaščititi z antioksidanti. Za potrditev povečanega oksidativnega stresa pri piščancih kot posledica slabše oksidativne stabilnosti krmnih mešanic z dodatkom hmelja bi bilo potrebno narediti dodatne raziskave oksidativne stabilnosti krmnih mešanic v katerih bi spremljali vsebnost primarnih (peroksidi) in sekundarnih produktov oksidacije maščob (aldehidi in ketoni) v različnih časovnih obdobjih med shranjevanjem krme.

Na osnovi pridobljenih podatkov *in vitro* raziskav lahko zaključimo, da je način skladiščenja krmnih mešanic (temperatura skladiščenja) zelo pomemben za uporabo hmelja v prehrani živali, saj so bile razlike med posameznimi sortami oz. križanci ter različnimi skladiščnimi pogoji statistično značilne. Izbor primernih sort hmelja ima zelo velik vpliv na obstojnost učinkovin hmelja. Tako lahko zaključimo, da je bila v *in vitro* poskusu, kot dodatek krmnim mešanicam za piščance pitance daleč najprimernejša mešanica dveh križancev z oznako 94/127 in 108/78, ki sta v primeru analiz vzorcev čistega hmelja pokazala, da imata zelo dobre skladiščne lastnosti, in kar je za postavljeni poskus še pomembnejše, se je kasneje potrdilo tudi v obliki krmnih mešanic, še zlasti če so bile te shranjene pri nižjih temperaturah. Pri sorti Dana temperatura ni imela bistvenega vpliva saj so bila znižanja α -in β -kislina v obeh primerih primerljiva. Padci β -kislina so bili najopaznejši pri sorti Aurora.

5 VIRI

- Analytica – EBC, α - and β -Acids in Hops and Hop Products by HPLC, EBC Analysis Committee-Nürnberg: Carl, Getränke – Fachverl Grundwerk, 2005.
- Analytica – EBC, Moisture Content of Hops and Hop Products, EBC Analysis Committee-Nürnberg: Carl, Getränke – Fachverl Grundwerk, 1997.
- Chirico S. High-performance liquid chromatography-based thiobarbituric acid tests. V: Oxygen radicals in biological systems. Methods in Enzymology. 1st edition. Packer L. (ed.). San Diego, Academic Press. 1994; 314-318.
- Cornelison J.M., Yan F., Watkins S.E., Rigby L., Segal J.B., Waldroup P.W. Evaluation of hops (*Humulus lupulus*) as an antimicrobial in broiler diets. *International Journal of Poultry Science*. 2006; 5(2): 134-136.
- Frankič T., Salobir J. Antioksidanti v prehrani živali. V: Zbornik predavanj 16. Mednarodnega znanstvenega posvetovanja o prehrani domačih živali, »Zdravčevi-Erjavčevi dnevi«, Radenci, 8.-9. nov. 2007. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije: 27-40.
- Fukunaga K., Takama K., Suzuki T.. High-performance liquid chromatographic determination of plasma malondialdehyde level without a solvent extraction procedure. *Analytical Biochemistry*. 1995; 230: 20-23.
- Gorissen H., Bellink C., Vanraenenbroeck R., Lontie R. Separation and identification of (+)-gallo catechine in hops. *Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie*. 1968; 76: 932-934.
- Jakovljević V., Popović M., Rasković A., Sabo A., Vasić R. Effect of aroma and magnum hops extracts and paracetamol on antioxidant liver parameters in mice. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2008; 4 (33): 205-209.
- Kenda N. Vpliv dodatkov oljčnih listov, pulpe ter njunih ekstraktov na oksidativno stabilnost krme za kokoši nesnice. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko. 2014; 60 str.
- Krofta K., Mikyška A., Haškova D. Antioxidant characteristics of hops and hop products. *Journal of the institute of brewing*. 2008; 2(114): 160-166.
- Marnett L.J. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research*. 1999; 424: 83-95.

- Nielsen F., Mikkelsen B.B., Nielsen J.B., Andersen H.R., Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry*. 1997; 43: 1209-1214.
- Pinto C., Cestero J.J., Rodríguez-Galdón B., Macías P. Xanthohumol, a prenylated flavonoid from hops (*Humulus lupulus* L.), protects rat tissues against oxidative damage after acute ethanol administration. *Toxicology Reports*. 2014; 1: 726-733.
- Rezar V., Pajk T., Marinšek Logar R., Ješe Janežič V., Salobir K., Orešnik A. Wheat bran and oat bran effectively reduce oxidative stress induced by high-fat diets in pigs. *Annals of Nutrition & Metabolism*. 2003; 47: 78-84.
- Rezar V., Pajk Žontar T., Levart A., Salobir K., Krsnik M., Osredkar J., Salobir J. Relevance of meat fat content and fruit and vegetable intake for the oxidative status of pigs. *Annals of Nutrition & Metabolism*. 2006; 50(1): 74-80.
- Ross 308 Nutrition specification. 2007. Aviagen:
http://www.natchix.co.za/pdf/nutrition_specifications.pdf (22. avg. 2015).
- Shi H., Noguchi N., Niki E. Introducing natural antioxidants. V: Antioxidants in food. Practical applications. Pokorny J., Yanishlieva N. Gordon M. (eds.). Cambridge, England, Woodhead Publishing Limited. 2001; 147-155.
- Sägesser M., Deinzer M. HPLC-ion spray-tandem mass spectrometry of flavonol glycosides in hops. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 1996; 54: 129-134.
- Stavri M., Schneider R., O'Donnell G., Lechner D., Bucar F., Gibbons S. The antimycobacterial components of hops (*Humulus lupulus*) and their dereplication. *Phytotherapy Research*. 2004; 18: 774-776.
- Steenackers B., De Cooman L., De Vos D. Chemical transformations of characteristic hop secondary metabolites in relation to beer properties and the brewing process: a review. *Food Chemistry*. 2015; 172: 742-756.
- Surai P.F., Dvorska J.E. Strategies to enhance antioxidant protection and implications for the well-being of companion animals. V: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Proceedings of Altech's 18th Annual Symposium, T.P. Lyons, K.A. Jacques (eds.). Nottingham, Nottingham University Press, 2002: 521-534.
- Taniguchi Y., Matsukura Y., Ozaki H., Nishimura K., Shindo K. Identification and quantification of the oxidation products derived from α acids and β -acids during storage of hops (*Humulus lupulus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013; 61: 3121-3130.
- Tillman G.E., Haas G.J., Wise M.G., Oakley B., Smith A., Siragusa G.R. Chicken intestine microbiota following the administration of lupulone, a hop-based antimicrobial. *FESM Microbiology Ecology*. 2011; 77: 395-403.
- Van Cleemput M., Cattor K., De Bosscher K., Haegeman G., De Keukeleire D., Heyerick A. Hop (*Humulus lupulus*)-derived bitter acids as multipotent bioactive compounds. *Journal of natural products*, 2009; 7: 1220-1230.
- Voljč M., Frankič T., Levart A., Nemeč M., Salobir J. Evaluation of different vitamin E recommendations and bioactivity of α -tocopherol isomers in broiler nutrition by measuring oxidative stress in vivo and the oxidative stability of meat. *Poultry science*, 2011; 90(7): 1478-1488.
- Wong S.H.Y., Knight J.A., Hopfer S.M., Zaharia O., Leach C.N., Sunderman F.W.J. Lipoperoxides in plasma as measured by liquid chromatographic separation of malondialdehyde – thiobarbituric acid adduct. *Clinical Chemistry*. 1987; 33: 214-220.

TAKSONOMIJA RODU *Verticillium* in DOLOČANJE FITOPATOGENE GLIVE *Verticillium albo-atrum*

Kristina MARTON⁶ in Sebastjan RADIŠEK⁷

Pregledni znanstveni članek / review scientific article

Prispelo / received: 15. oktober 2015

Sprejeto / accepted: 7. december 2015

Izveček

Fitopatogene glive rodu *Verticillium* povzročajo okužbe prevodnega sistema številnih dvokaličnic, ki vodijo v nastanek različnih bolezenskih znamenj, kot so kloroze, nekroze, venenje in odmiranje. Največje težave povzročajo pri trajnicah, kot so oljke, bombaž in hmelj, katerih nasade lahko popolnoma uničijo in posledično povzročijo ogromno gospodarsko škodo. V Sloveniji največ škode povzroča vrsta *V. albo-atrum* na hmelju, ki z letalnim patotipom PV1 povzroča odmiranje rastlin in sili pridelovalce v krčenje nasadov in večletno sanacijo tal. Pri glivah rodu *Verticillium* spolni cikl ni poznan, imajo širok nabor gostiteljskih rastlin, samo razlikovanje na osnovi morfoloških lastnosti pa je pogosto zelo zahtevno, zaradi česar ima ta rod zelo razgibano taksonomsko zgodovino. Nadgrajevanje taksonomije je izrednega pomena pri razumevanju izvora, evolucije, mehanizmov prilagajanja različnim substratom ter samega določevanja posameznih povzročiteljev bolezni. Prispevek predstavlja pregled in razlago taksonomskega razvoja rodu *Verticillium* ter načine določanja s poudarkom na hmeljnih izolatih vrste *V. albo-atrum*.

Ključne besede: *Verticillium* / taksonomija / diagnostika / PCR

TAXONOMY OF GENUS *Verticillium* AND DETERMINATION OF PHYTOPATHOGENIC FUNGUS *Verticillium albo-atrum*

Abstract

Phytopathogenic fungi from the genus *Verticillium* causes infections of the vascular system of numerous dicotyledons, which leads to formation of different symptoms, such as chlorosis, necrosis, wilting and plant death. The most harmful infections are on perennial crops, such as olive trees, cotton and hops, where they can destroy entire plantations and cause extensive economic losses. In Slovenia, the most damage is caused on hop by fungus *V. albo-atrum*, whose lethal pathotype PV1 causes plant withering and forces farmers into eradications and soil sanitation process which may take more years. For fungi from the genus *Verticillium*, the sexual cycle is not known, they have a wide spectrum of host plants, and their determination based only on morphological characteristics is often very difficult. Therefore, this genus has a very diverse taxonomic history. Upgrading taxonomy is crucial in understanding the origin, the evolution, the mechanisms of adaptation to different substrates, and for pathogen determination. This paper presents an overview and explanation of *Verticillium* taxonomy and a description of different techniques of determination with an emphasis on hop isolates of *V. albo-atrum*.

Key words: *Verticillium* / taxonomy / diagnostics / PCR

⁶ Univ. dipl. bioteh., Biotehniška fakulteta, Oddelek za agonomijo (Department of Agronomy), Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, e-pošta: kristina.marton@bf.uni-lj.si

⁷ Dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin (Plant Protection Department), Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenija, e-pošta: sebastjan.radisek@ihps.si

1 UVOD

Rod *Verticillium sensu stricto* predstavlja skupino fitopatogenih gliv, ki povzročajo okužbe prevodnega sistema rastlin in posledično nastanek različnih bolezenskih znamenj, kot so kloroze, nekroze, venenje in odmiranje (Klosterman in sod., 2009). Gre za skupino gospodarsko pomembnih rastlinskih patogenov, saj njeni predstavniki okužujejo veliko število vrst gojenih rastlin iz skupine dvokaličnic (Pegg in Brady, 2002). Poleg neposredne škode, ki nastaja zaradi okužb rastlin, so omenjene glive problematične zaradi sposobnosti tvorbe trajnih organov, ki jim omogočajo večletno preživetje v tleh in tako povzročajo ponavljajoč gospodarski problem. V povprečju povzročajo izpad pridelka med 10 in 15 %, pri nekaterih rastlinskih vrstah, kot so solata, krompir ali paprika, pa lahko izgube presegajo tudi 50 %. Pri trajnicah, kot so hmelj, bombaž in oljke, lahko vrste iz rodu *Verticillium* povzročijo tudi propad nasadov (Pegg, 1984; Klosterman, 2009). V Sloveniji največ škode naredi gliva *V. albo-atrum* na hmelju, ki s pojavom letalnega patotipa PV1 (genotip PG2) povzroča odmiranje rastlin in sili pridelovalce v krčenje nasadov in večletno sanacijo tal (Radišek in sod., 2004, 2006). Omenjena gliva je zaradi visoke škodljivosti hmelju v Evropski uniji uvrščena na listo karantenskih organizmov II.A.II. direktive Sveta 2000/29/ES za nadzor sadilnega in razmnoževalnega materiala.

Glive rodu *Verticillium* imajo zaradi izostanka spolnega cikla in zahtevnosti določanja posameznih vrst in patotipov razgibano taksonomsko zgodovino (Radišek in sod., 2011). Zadnjo revizijo, ki obravnava fitopatogene vrste oz. rod *Verticillium sensu stricto*, so opravili Iderbitzin in sod. (2011). Pri tem nova taksonomija, osnovana na multigenih analizah in morfoloških lastnostih, razdeljuje obstoječe vrste in hkrati opisuje nove vrste. Tovrstna proučevanja in nadgrajevanje taksonomije so izrednega pomena pri razumevanju izvora, evolucije, mehanizmov prilagajanja različnim substratom ter samega določevanja posameznih povzročiteljev bolezni. Prispevek predstavlja pregled in razlago taksonomskega razvoja rodu *Verticillium* ter načine določanja s poudarkom na hmeljnih izolatih vrste *V. albo-atrum*, ki so po zadnji taksonomski reviziji uvrščeni v vrsto *V. nonalfalfae* (Iderbitzin in sod., 2011).

2 TAKSONOMIJA

Rod *Verticillium* je prvi opisal nemški mikolog Nees von Esenbeck leta 1816. Ime je izpeljal iz latinske besede *verticillius*, ki pomeni vretence, saj glive tvorijo značilne vretenaste konidiofore. Dobrih dvajset let za njegovim opisom se je pojavilo tudi ime *Acrostalagmus* kot poseben rod, vendar so ugotovili, da gre za isto skupino gliv, imenovano *Verticillium* (Hoffman, 1854).

Precejšnje težavo pri taksonomskem razvrščanju predstavlja nespolni način razmnoževanja teh gliv, zato so jih najprej razvrstili v skupino Deuteromycota, razred Hyphomycetes, red Hyphomycetales in družino Moniliaceae. Ta se je dalje na osnovi morfologije ločila na štiri sekcije (Gams, 1988; Gams in Van Zaayen, 1982):

1. *Prostrata*:
 - *V. chlamydosporium* Goddard (1913),
 - *V. balanoides* (Drechsler) Dowsett in sod. (1982),
 - *V. fungicola* (Preuss) Hassebrauk (1936),
 - *V. lecanii* (Zimmermann) Viégas (1939).
2. *Albo-erecta*:
 - *V. rexianum* (Saccardo) Saccardo (1882).
3. *Verticillium*:
 - *V. tenerum* Nees (1816).
4. *Nigrescentia*:
 - *V. albo-atrum* Reinke in Berthold (1879)
 - *V. dahliae* Klebhan (1913),
 - *V. tricorpus* Isaac (1953),
 - *V. nigrescens* Pethybridge (1919),
 - *V. nubilum* Pethybridge (1919),
 - *V. theobromae* (Turconi) Mason in Hughes (1951).

Sekcija *Nigrescentia* je dobila ime po tvorbi melaniziranih trajnih organov in vključuje fitopatogene vrste, med katerimi po patogenosti izstopata glivi *V. albo-atrum* in *V. dahliae*. V ostale sekcije so bile uvrščene glive, ki parazitirajo žuželke, ogorčice, ostale glive ali pa spadajo med saprofite. Taksonomijo, ki je temeljila na morfologiji, je popolnoma prevetnilo razvrščanje gliv na osnovi analize DNK in združilo glive s spolnim ciklom z nespolnimi glivami v enoten sistem. Multigenске molekularne analize so tako uvrstile rod *Verticillium* v družino Plectosphaerellaceae, red Hypocreales, podrazred Hypocreomycetidae, razred Sordariomycetes, poddeblo Pezizomycotina in deblo Ascomycota (preglednica 1) (Index Fungorum, 2015). Zanimivo je, da je družina Plectosphaerellaceae precej sorodna glivam iz rodu *Colletotrichum* iz družine Glomerellaceae, ki predstavlja še eno pomembno skupino fitopatogenih gliv (Zhang in sod., 2006). Zare je leta 2003 nadalje razdelil vrste rodu *Verticillium sensu lato* še na 4 rodove *Pochonia*, *Lecanicillum*, *Haptocillium* in *Simplicillum*, kar so z nadaljnimi analizami podprli tudi ostali raziskovalci (Zhang in sod., 2006, Gams in sod., 2005). Rod *Verticillium sensu stricto* je po teh raziskavah zajemal le še 5 vrst (*V. albo-atrum*, *V. dahliae*, *V. tricorpus*, *V. longisporum* in *V. nubilum*), ki predstavljajo izključno rastlinske patogene.

Poleg taksonomskih raziskovalnih skupin so skupino fitopatogenih gliv rodu *Verticillium* intenzivno proučevali tudi fitopatologi, predvsem v smeri določanja gostiteljske specifičnosti, ločevanja med posameznimi sevi ali patotipi za namene diagnostike ter razumevanja razvoja virulence in patogenosti v okviru posameznih vrst. Raziskave, usmerjene v proučevanje izolatov glive *V. albo-atrum*, so pokazale, da v okviru te vrste obstaja jasna variabilnost, ki so jo ovrednotili kot skupino izolatov Grp1, ki jo tvorita podskupina L (izolati iz lucerne) in podskupina NL (izolati vseh ostalih gostiteljskih rastlin, kamor uvršamo tudi izolate iz

hmelja), in skupino Grp2, ki predstavlja specifične izolate, izolirane iz krompirja (Nazar in sod., 1991; Robb in sod., 1993; Carder in Barbara, 1991; Mahuku in Platt, 2002a). Razlike med omenjenimi skupinami so nakazovale, da bi jih lahko obravnavali kot nove vrste, zato so Inderbitzin in sod. (2011) opravili taksonomsko raziskavo, v kateri so s filogenetsko analizo in analizo morfoloških lastnosti proučili reprezentativne izolate posameznih skupin glive *V. albo-atrum* ter v analizo vključili tudi izolate in podskupine ostalih fitopatogenih vrst rodu *Verticillium*.

Preglednica 1: Taksonomska uvrstitev rodu *Verticillium* (*Index fungorum*, 2015)

Table 1: Taxonomic classification of the genus *Verticillium* (*Index fungorum*, 2015)

Taksonomski niz	Ime
Domena	Eukarya
Kraljestvo	Fungi
Deblo	Ascomycota
Poddeblo	Pezizomycotina
Razred	Sordariomycetes
Podrazred	Hypocreomycetidae
Red	Hypocreales
Družina	Plectosphaerellaceae
Rod	<i>Verticillium</i>

Preglednica 2: Spremembe poimenovanja in sekcij vrst rodu *Verticillium* *sensu stricto* (Inderbitzin in sod., 2011)

Table 2: Differences in designation and clades of genus *Verticillium* *sensu stricto* (Inderbitzin et al., 2011)

Prejšnje poimenovanje	Sprememba v taksonomiji	Sedanje poimenovanje	Sekcija vrste
<i>Verticillium albo-atrum</i>	Razdelila se je na tri vrste, določen epitip za <i>V. albo-atrum</i> .	<i>V. albo-atrum</i> , <i>V. alfalfae</i> in <i>V. nonalfalfae</i>	Flavexudans Flavnonexudans Flavnonexudans
<i>Verticillium dahliae</i>	Določen epitip.	<i>V. dahliae</i>	Flavnonexudans
<i>Verticillium longisporum</i>	Nobena.	<i>V. longisporum</i>	Flavnonexudans
<i>Verticillium nubilum</i>	Določen epitip.	<i>V. nubilum</i>	Flavnonexudans
<i>Verticillium tricorpus</i>	Razdelila se je na tri vrste, določen lektotip za <i>V. tricorpus</i> .	<i>V. tricorpus</i> <i>V. isaacii</i> <i>V. klebhanii</i>	Flavexudans Flavexudans Flavexudans
-	Opisana nova vrsta.	<i>V. zaregamsianum</i>	Flavexudans

Rezultat raziskave je bila razdelitev vrst *V. albo-atrum* na tri nove: *V. albo-atrum*, *V. alfalfae* in *V. nonalfalfae*. Da pa ne bi prišlo do zamenjav v poimenovanju, je EFSA leta 2014 izdala znanstveno mnenje, kjer poimenuje nove vrste *V. albo-atrum sensu stricto*, *V. alfalfae* in *V. nonalfalfae*, vrsto *V. albo-atrum* pred novim poimenovanjem pa *V. albo-atrum sensu lato*, ker v starejših člankih ni jasno, za katero vrsto gre (Baker in sod., 2014). Podobna razdelitev na tri vrste je bila potrjena pri vrsti *V. tricorpus*, pri nekaterih vrstah pa se je potrdilo, da ne spadajo v podrod *Verticillium sensu stricto*, niti v rod *Verticillium*, zato so jih preimenovali in razvrstili drugače: *V. theobromae* v *Musicillium theobromae* ter *V. nigrescens* v *Gibellulopsis nigrescens* (Inderbitzin in Subbarao, 2014).

Poleg samega opisa 5 novih vrst so vrste razdelili tudi na 2 sekciji, Flavexudans (vrste s tvorbo rumenega pigmenta) in Flavnonexudans (neobravnane hife) (preglednica 2), ter definirali reprezentativne gostitelje posameznih vrst (preglednica 3).

Preglednica 3: Vrste rodu *Verticillium sensu stricto* in njihovi gostitelji (Inderbitzin in sod., 2011; Kasson in sod., 2014; Snyder in sod., 2014)

Table 3: Species of genus *Verticillium sensu stricto* and their hosts (Inderbitzin et al., 2011; Kasson et al., 2014; Snyder et al., 2014)

Vrsta	Gostitelj
<i>V. albo-atrum sensu stricto</i>	krompir, tla krompirjevih polj
<i>V. alfalfae</i>	lucerna
<i>V. dahliae</i>	rastlinske družine: javorovke, ščirovke, octovke, bršljanovke, nebinovke, križnice, bučevke, metuljnice, komelinovke, slezenovke, oljkovke, makovke, rožnice, razhudnikovke
<i>V. isaacii</i>	paradižnik, artičoka, solata, špinača, tla
<i>V. klebahnii</i>	solata
<i>V. longisporum</i>	oljna ogroščica, zelje, cvetača, hren, redkev, sladkorna pesa, divja redkev
<i>V. nonalfalfae</i>	hmelj, krompir, špinača, petunija, paradižnik, veliki pajesen, javor, kivi, aralije, mnogocvetni šipek, krompir, jajčevec
<i>V. nubilum</i>	kompost gojenih gob, krompir, tla
<i>V. tricorpus</i>	paradižnik, krompir, nagelj
<i>V. zaregamsianum</i>	solata

3 NAČINI DOLOČANJA GLIVE *V. nonalfalfae*

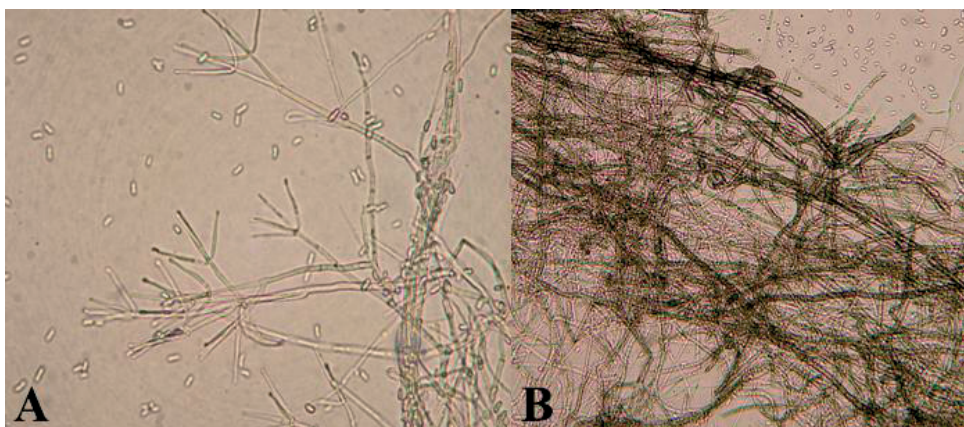
Pri določanju izolatov glive *V. nonalfalfae* uporabljamo različne identifikacijske pristope, ki zajemajo morfologijo, patogene teste in molekularne analize.

3.1 Morfološke lastnosti

Po zadnjem poimenovanju (Inderbitzin in sod., 2011) za morfološko določanje glive *V. nonalfalfae* drži naslednje:

- Kolonije zrastejo na krompirjevem dekstroznem agarju po dveh tednih, na premer 3,5–5,5 cm. Sprva so bele, pozneje potemniijo, saj se začnejo formirati trajni organi.

- Tvorijo ogromno zračnega micelija v obliki šopov laskov ali belega prahu.
- Hife imajo gladko steno, v širino merijo 1,5–3 μm .
- Konidiogene celice so fialide. 2 do 6 jih je razporejenih okoli konidiofor.
- Vretenca so med seboj oddaljena 50–160 μm , pri apeksu so bližje. Sestavlja jih 2–5 fialid, ki izhajajo prečno iz septuma. Apikalna vretenca sestavljajo ena apikalna in več lateralnih fialid.
- Konidiofori so pokončni ali poševni, običajno so razvejeni ali nerazvejeni, hialinski, rjavo obarvani pri bazi, do 11 μm široki. V dolžino merijo 70–570 μm in v širino 4,5–6,5 μm . Proti apeksu se zožijo na 2 do 2,5 μm (slika 1)
- Konidiji so hialinski, imajo gladko steno cilindrične oblike z okroglimi ali ovalnimi vrhovi. Njihove dimenzije so $6,0 \pm 1,0 \mu\text{m} \times 3,0 \pm 0,5 \mu\text{m}$, akumulirajo pa se pri koncu fialid.
- Trajni micelij je temno obarvan, sestavljajo ga rjavo obarvane hife širine 9 μm (slika 1).



Slika 1: Gliva *V. nonalfalfae*; (A) konidiofori in konidiji (200x), (B) trajni micelij (100x) (Radišek, 2014)

Figure 1: Fungus *V. nonalfalfae*; (A) conidiophores and conidia (200x), (B) resting micelium (100x) (Radisek, 2014)

3.2 Skupine vegetativne kompatibilnosti (VCG)

Med začetne načine determinacije in določanje sorodnosti različnih vrst gliv iz rodu *Verticillium*, ki temeljijo na morfoloških lastnostih, uvrščamo skupine vegetativne združljivosti (ang. vegetative compatibility group, VCG), ki jih tvorijo glive istih vrst. To je tako imenovana zmožnost hif dveh sevov iste vrste, da se anastomotsko povežeta in tvorita stabilen heterokarion. Za opazovanje pripadnosti isti VCG je najprej potrebno pripraviti seve mutant, ki nimajo sposobnost izkoriščanja nitratov (ang. nitrate non-utilizing, *nit*). Izolata pripadata isti skupini VCG, če dva komplementna *nit* mutanta rasteta na minimalnem mediju. To je rezultat uspešne fuzije med sevi, ki se odraža v stabilnem heterokarionu in ne kaže mutantnega fenotipa (Leslie, 1993; Rowe, 1995; Iglesias-Garcia in sod., 2013). Pri izolatih glive *V. albo atrum sensu lato* iz različnih gostiteljskih rastlin so Correll in sod. (1988) določili dve VCG skupini. Prvo skupino so sestavljali izolati, ki so jih izolirali iz lucerne,

drugo skupino pa so sestavljali izolati iz različnih gostiteljev. Tvorbo VCG skupin med hmeljnimi izolati *V. albo-atrum* sta prva potrdila Clarkson in Heale leta 1985.

3.3 RFLP analize

Polimorfizem dolžin restrikcijskih fragmentov (ang. Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) je analiza, ki temelji na razliki dolžin fragmentov, ki nastanejo med vzorci homolognih DNA molekul. Te razlike so posledica različnih zaporedij nukleotidov in posledično tudi različnih mest za restrikcijske encime (Saiki in sod., 1985). Na podlagi teh razlik lahko tudi določimo vrste gliv rodu *Verticillium* med seboj. Analiza RFLP je bila pretežno bolj v uporabi pred odkritjem PCR in objavo specifičnih začetnih oligonukleotidov, vendar je še vedno zelo uporabno orodje za determinacijo glive *V. nonalfalfae*. Zare je leta 2003 na podlagi mitohondrijske RFLP analize ločil med vsemi dotlej znanimi vrstami rodu *Verticillium*. *V. theobromae* in *V. nigrescens* sta celo kazala določene podskupine. Uporabil je encim *Hae III* po metodi Kouvelis in sod. (1999). Še pred njim pa so leta 1992 Typas in sodelavci poskušali RFLP analizo z encimoma *EcoRI* in *HaeIII* na genomski DNA gliv rodu *Verticillium*. Ugotovili so, da prvi encim ne ločuje med *V. albo-atrum* in *V. dahliae*, drugi pa ju ločuje (Typas in sod., 1992). Carder in Barbara (1991) sta z RFLP določila razlike med šestimi vrstami gliv rodu *Verticillium*.

3.4 PCR analize - analiza nukleotidnega zaporedja ITS in IGS regij

Morfološka determinacija glive *V. nonalfalfae* sama po sebi ni dovolj, saj se lahko lastnosti, ki se uporabljajo za identifikacijo, izgubijo v laboratorijskih razmerah gojenja. Nekatere glive rodu *Verticillium* niti nimajo morfoloških lastnosti, po katerih bi jih lahko ločili med seboj. Zato se je treba poleg uporabe dihomskega ključa zateči tudi k drugim molekularnim metodam, kot so verižna reakcija s polimerazo (ang. polymerase chain reaction, PCR), določanje nukleotidnega zaporedja in iskanje razlik v regiji jedrne ribosomalne DNA, imenovani notranji prepisni vmesnik ribosomske DNA (ang. internal transcribed spacer, ITS), z blast algoritmom. ITS regije so uradna barkoding regija za glive, poleg tega so najbolj razširjena metoda, ki temelji na identifikaciji DNA (Inderbitzin in sod., 2013; Baker in sod., 2014; Inderbitzin in Subbarao, 2014).

V evkariontski jedrni DNA se zaporedje za rRNA ribosoma nahaja v tandemskih ponovitvah s številom kopij do 5000. Sestavljajo ga del male podenote, imenovane 18S (SSU), in deli velike podenote 26S (LSU), 5,8S in 5S. Omenjene funkcionalne regije so med seboj ločene z vmesniki; z medgenskim vmesnikom (IGS) med dvema ponovitvama 18S in 26S + 5,8S rRNA ter z notranjima prepisanimi vmesnikoma (ITS1, ITS2) med 18S in 26S rRNA. Mutacije v teh predelih so lahko podlaga za filogenetske študije, vendar so se pojavile prve omejitve, saj regije, ki so določile in razjasnile sorodnost med določenimi taksoni, niso bile uporabne pri določanju sorodnosti med drugimi taksoni. Za reševanje tega problema so v filogenetske namene začeli iskati in ugotavljati še uporabnost drugih lokusov, kot so nukleotidna zaporedja genov za RNA-polimeraze, elongacijski faktor 1α in geni za različne strukturne proteine (aktin, β -tubulin) (Tang in sod., 2007).

Na podlagi PCR metode so glive rodu *Verticillium* v preteklosti poskušale razlikovati različne raziskovalne skupine (Koike in sod., 1997; Mahuku in Platt, 2002b; Lievens in sod., 2006;

Gayoso in sod., 2007; Bilodeau in sod., 2012). Kljub temu je najbolj aktualna prav zadnja objava iz leta 2013 avtorjev Inderbitzin in sod.

Inderbitzin in sod. (2011) so razvili specifične začetne oligonukleotide za polimerazno verižno reakcijo (PCR), ki lahko ločijo med vsemi desetimi vrstami gliv rodu *Verticillium* na podlagi ITS regij, genov za aktin, za elongacijski faktor 1α , za gliceraldehid 3-fosfat dehidrogenazo in triptofan sintazo. Še posebno težko se ločijo vrste in podvrste *V. dahliae* in *V. longisporum*, saj je *V. dahliae* starševska vrsta dveh od treh linij glive *V. longisporum*. Iz tega razloga je za določitev ostalih vrst dovolj simpleks PCR, za razlikovanje med glivo *V. dahliae* in *V. longisporum* pa je potreben multipleks PCR (Inderbitzin in sod., 2013).

Podobno kot analiza ITS nukleotidnega zaporedja je lahko podlaga za razlike med vrstami rodu *Verticillium* tudi nukleotidno zaporedje medgenskega vmesnika (ang. intergenic spacer, IGS) ribosomalne RNA. Geni, ki kodirajo ribosomalno RNA in vmesnike, se pojavljajo v več tandemskih ponovitvah, ki so dolge več tisoč nukleotidov. Ti so med seboj ločeni z IGS. Za IGS regijo so značilne podponovitve, ki so jih opazili Collins in sod. (2003). Te so tudi omogočile ločevanje med *V. alfalfae*, *V. dahliae*, *V. tricorpus* in *V. nonalfalfae*.

3.5 AFLP analize

Polimorfizem dolžin pomnoženih fragmentov (ang. Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP) je analiza, ki deluje na podlagi različnih polimorfizmov na mestih prileganja začetnih oligonukleotidov. Zaradi tega dobimo različno dolge pomnožene fragmente DNA med PCR (Vos in sod., 1995). Na podlagi te razlike so Collins in sod. (2003) ločili med *V. alfalfae*, *V. dahliae*, *V. tricorpus* in *V. nonalfalfae* s pomočjo treh setov začetnih oligonukleotidov (15 parov začetnih oligonukleotidov). Določili so tudi skupine, ki so se pojavile v okviru posameznih vrst. Tako so Radišek in sod. (2003a) s pomočjo AFLP analize odkrili razlike na nivoju genoma med različno virulentnima patotipoma glive *V. nonalfalfae* na hmelju.

3.6 RAPD analize

Naključno pomnožena polimorfna DNA (ang. Randomly Amplified Polymorphic DNA, RAPD) je analiza, ki temelji na naključnem pomnoževanju DNA segmentov. Poteka z dizajnom več arbitrarnih, od 8 do 12 nukleotidov dolgih začetnih oligonukleotidov, ki se uporabljajo za PCR genomske DNA. Kot rezultat se na gelu pojavijo unikatni profili različno dolgih fragmentov DNA za posamezne vrste (Williams in sod., 1990), na podlagi česar lahko ločimo vrste med sabo. Bhat in Subbarao (1999) sta uspešno uporabila RAPD test za določanje razlik med *V. dahliae* in *V. alfalfae*. Od 40 naključnih začetnih oligonukleotidov jih je DNA od prej omenjenih organizmov pomnoževalo 18. Ti so jasno ločevali med *V. dahliae* in *V. alfalfae*.

Prav tako so Koike in sod. (1996) ločili med sevi *V. dahliae* in *V. alfalfae sensu lato*. Na podlagi te analize so tudi določili različne podskupine med prej omenjenimi glivami.

3.7 Določanje patogenosti vrste *V. nonalfalfae*

Vrsta *V. nonalfalfae* uspešno okužuje širši nabor gostiteljev, vendar ne povzroča vidnih bolezenskih znamenj na vseh rastlinah. Različni sevi glive *V. nonalfalfae* povzročajo različna bolezenska znamenja. Kasson in sod. (2014) predlagajo določanje patogenosti glede na bolezenska znamenja, ki jih povzročajo različne koncentracije konidijev *V. nonalfalfae* po metodi namakanja korenin (Qin in sod., 2006). Podobno klasifikacijo predlagajo tudi Radišek in sod. (2003a in 2003b).

3.8 NGS

Novejše metode določevanja nukleotidnega zaporedja, kot je tudi naslednja generacija določevanja nukleotidnega zaporedja (ang. Next Generation Sequencing, NGS), so bolj namenjene iskanju razlik v posamičnih bazah, kar lahko s pridom izkoristimo za določevanje novih začetnih oligonukleotidov ali restrikcijjskih encimov za določanje razlik med posameznimi vrstami gliv rodu *Verticillium*. Pri tej metodi lahko določimo tudi razlike med posameznimi sevi gliv na podlagi primerjave večjih regij ali celo celega genoma, kar pa pride bolj v poštev pri študijah patogenosti posameznih podskupin organizmov ali pri iskanju regij, povezanih s povečano patogenostjo. Tak primer je tudi določanje sintenije med različnimi patotipi glive *V. nonalfalfae* naše raziskovalne skupine (neobjavljeni podatki).

4 ZAKLJUČEK

Rod *Verticillium* je imel od odkritja prve vrste pa vse do danes več taksonomskih revizij, ki so pomembno vplivale na samo klasifikacijo posameznih vrst in hkrati prispevale k razvoju njihovega določevanja. Največji premik je naredil napredek znanosti na nivoju molekularne biologije in posledično diagnostike, ki določa posamezne vrste ali patotipe na nivoju nukleinskih kislin, proteinov ali celo celotnih genomov. Zadnja taksonomska revizija fitopatogenih vrst rodu *Verticillium* je postavila nove temelje in hkrati odprla vrata za vključevanje novih vrst v ta rod. S fitopatološkega stališča nas zanima predvsem variabilnost v okviru posameznih vrst, ki jo določajo sevi ali patotipi. Ta vidik je pomemben zlasti pri sprejemanju ukrepov, pri reševanju bolezenskih izbruhov in hkrati pomemben pri samem razumevanju mehanizmov razvoja bolezni. Ne glede na obsežen razvoj različnih diagnostičnih tehnik pa kot osnovni del določanja še vedno ostaja morfološka analiza, ki se v procesu določanja nadgrajuje z ostalimi analizami.

5 VIRI

- Baker R., Bragard C., Caffier D., Candresse T., Gilioli G., Grégoire J.-C., Holb I., Jeger M. J., Evtimova Karadjova O., Magnusson C., Makowski D., Manceau C., Navajas M., Rafoss T., Rossi V., Schans J., Schrader G., Urek G., Vloutoglou I., van der Werf W., Winter S. Scientific Opinion on the pest categorisation of *Verticillium albo-atrum*. *EFSA Journal*. 2014; 12(12): 3927.
- Bhat R. G., Subbarao K. V. Host Range Specificity in *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*. 1999; 89(12): 1218–1225.
- Bilodeau G. J., Koike S. T., Uribe P., Martin F. N. Development of an assay for rapid detection and quantification of *Verticillium dahliae* in soil. *Phytopathology*. 2012; 102(3): 331–43.
- Carder J. H., Barbara D. J. Molecular variation and restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) within and between six species of *Verticillium*. *Mycological Research*. 1991; 95(8): 935–942.

- Clarkson J. M., Heale J. B. Heterokaryon compatibility and genetic recombination within a host lant between hop wilt isolates of *Verticillium albo-atrum*. *Plant pathology*. 1985; (34):129-138.
- Collins A., Okoli C. A. N., Morton A., Parry D., Edwards S. G., Barbara D. J. Isolates of *Verticillium dahliae* Pathogenic to Crucifers Are of at Least Three Distinct Molecular Types. *Phytopathology*. 2003; 93(3): 364–376.
- Correll J. C., Gordon T. R., McCain A. H. Vegetative compatibility and pathogenicity of *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology*. 1988; (78):1017–1021.
- Gams W. A contribution to the knowledge of nematophagous species of *Verticillium*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 1988; (94):123-148.
- Gams W., Zare R., Summerbell R. C. Proposal to conserve the generic name *Verticillium* (anamorphic Ascomycetes) with a conserved type. *Taxon*. 2005; 54(1):179.
- Gams W., Van Zaayen A Contribution to the taxonomy and pathogenicity of fungicolous *Verticillium* species I. Taxonomy. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 1982; (88):57-58.
- Gayoso C., de Ilárduya O. M., Pomar F., Merino de Cáceres F. Assessment of real-time PCR as a method for determining the presence of *Verticillium dahliae* in different *Solanaceae* cultivars. *European Journal of Plant Pathology*. 2007; 118(3): 199–209.
- Hoffman H. Spermastien bier einem Fadenpilze. *Botanische Zeitung*. 1854, (12):249-254.
- Iglesias-Garcia A. M., Villarroel-Zeballos M. I., Feng C., du Toit L. J., Correll J. C. Pathogenicity, Virulence, and Vegetative Compatibility Grouping of *Verticillium* Isolates from Spinach Seed. *Plant Disease*. 2013; 97(11): 1457–1469.
- Inderbitzin P., Bostock R. M., Davis R. M., Usami T., Platt H. W., Subbarao K. V. Phylogenetics and taxonomy of the fungal vascular wilt pathogen *Verticillium*, with the descriptions of five new species. *PLoS one*. 2011; 6(12): e28341.
- Inderbitzin P., Davis R. M., Bostock R. M., Subbarao K. V. Identification and Differentiation of *Verticillium* Species and *V. longisporum* Lineages by Simplex and Multiplex PCR Assays. *PLoS one*. 2013; 8(6): e65990.
- Inderbitzin P., Subbarao K. V. *Verticillium* systematics and evolution: how confusion impedes *Verticillium* wilt management and how to resolve it. *Phytopathology*, 2014; 104(6): 564–74.
- Index fungorum. www.indexfungorum.org. 2015
- Kasson M. T., Short D. P. G., O’Neal E. S., Subbarao K. V, Davis D. D. Comparative pathogenicity, biocontrol efficacy, and multilocus sequence typing of *Verticillium nonalfalfae* from the invasive *Ailanthus altissima* and other hosts. *Phytopathology*. 2014; 104(3): 282–92.
- Klosterman S. J., Atallah Z. K., Vallad G. E., Subbarao K. V. Diversity, pathogenicity, and management of *Verticillium* species. *Annual review of phytopathology*. 2009; 47: 39–62.
- Koike M., Itaya T., Hoshino K.-I., Nagao H., Ohshima S. PCR Detection of Japanese Isolates of *Verticillium dahliae* and *V. albo-atrum* using European Subgroup-specific Primers. *Microbes and environments*. 1997; 12(1): 15–18.
- Koike M., Watanabe M., Nagao H., Ohshima S. Random amplified polymorphic DNA analysis of Japanese isolates of *Verticillium dahliae* and *Verticillium albo-atrum*. *Letters in applied microbiology*. 1996; 21(2): 75-78.
- Kouvelis V. N., Zare R., Bridge P. D., Tyoas M. A. Differentiation of mitochondrial subgroup in the *Verticillium lecanii* species complex. *Letters in Applied Microbiology*. 1999; 28(4): 263-268.
- Leslie J. F. Fungal vegetative compatibility. *Annual Review of Phytopathology*. 1993; 31: 127-150.
- Lievens B., Brouwer M., Vanachter A. C. R. C., Cammue B. P. A., Thomma B. P. H. J. Real-time PCR for detection and quantification of fungal and oomycete tomato pathogens in plant and soil samples. *Plant Science*. 2006; 171(1): 155–165.
- Mahuku G. S., Platt H. W. Molecular evidence that *Verticillium albo-atrum* Grp2 isolates are distinct from *V. albo-atrum* Grp1 and *V. tricorpus*. *Molecular Plant Pathology*. 2002a; 3(2): 71-79.
- Mahuku G. S., Platt H. W. Quantifying *Verticillium dahliae* in soils collected from potato fields using a competitive PCR assay. *American Journal of Potato Research*. 2002b; 79(2): 107–117.
- Nazar R. N., Hu X., Schmidt J., Culham D., Robb J. Potential use of PCR-amplified detection and differentiation of *Verticillium* wilt pathogens. *Molecular Plant Pathology*. 1991; 39(1): 1-11.

- Pegg G. F. The impact of *Verticillium* diseases in agriculture. *Phytopathologia Mediterranea*. 1984; 23(2-3): 176-192.
- Pegg G. F., Brady B. L. *Verticillium* Wilts. Wallingford, CABI Publishing, 2002; 552.
- Qin Q. M., Vallad G. E., Wu B. M., Subbarao K. V. Phylogenetic Analyses of Phytopathogenic Isolates of *Verticillium* spp. *Phytopathology*. 2006; 96(6): 582–592.
- Radišek S., Jakše J., Simončič A., Javornik B. Characterization of *Verticillium albo-atrum* Field Isolates Using Pathogenicity Data and AFLP Analysis. *Plant Disease Journal*. 2003a; 87(6): 633-638.
- Radišek S., Jakše J., Javornik B. Development of pathotype-specific SCAR markers for detection of *Verticillium albo-atrum* isolates from hop. *Plant Dis*. 2004; 88(10): 1115–1122.
- Radišek S., Jakše J., Javornik B. Genetic variability and virulence among *Verticillium albo-atrum* isolates from hop. *European Journal of Plant Pathology*. 2006; 116(4): 301–314.
- Radišek S., Jakše J., Javornik B. Identifikacija dveh patotipov glive *Verticillium albo-atrum* na hmelju z molekulkimi markerji in umetnimi okužbami hmelja. *Hop Bulletin*. 2003b; 107–111.
- Radišek S., Javornik B. Taxonomy and variability of phytopathogenic *Verticillium* species. *Hop Bulletin*, 2011; 18: 41-55.
- Robb J., Moukhamedov R., Hu X., Platt H., Nazar R. N. Putative subgroups of *Verticillium albo-atrum* distinguishable by PCR-based assays. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 1993; 43(6): 423-436.
- Rowe R. C. Recent progress in understanding relationships between *Verticillium* species and subspecific groups. *Phytoparasitica*. 1995; 23(1): 31-38.
- Saiki R., Scharf S., Faloona F., Mullis K., Horn G., Erlich H., Arnheim N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. 1985; 230(4732): 1350-1354.
- Snyder A. L., Salom S. M., Kok L. T. Survey of *Verticillium nonalfalfae* (Phyllachorales) on tree-of-heaven in the southeastern USA. *Biocontrol Science and Technology*. 2014; 24(3): 303–314.
- Tang A. M. C., Jeewon R., Hyde K. D. Phylogenetic utility of protein (RPB2, β -tubulin) and ribosomal (LSU, SSU) gene sequences in the systematics of *Sordariomycetes* (Ascomycota, Fungi). *Antonie van Leeuwenhoek*, 2007; 91(4): 327-349.
- Typas M. A., Griffen A. M., Bainbridge B. W., Heale J. B. Restriction fragment length polymorphisms in mitochondrial DNA and ribosomal RNA gene complexes as an aid to the characterization of species and sub-species populations in the genus *Verticillium*. *FEMS Microbiology Letters*. 1992; 95(2-3), 157–162.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*. 1995; 23(21): 4407–14.
- Williams J. G., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*. 1990; 18(22): 6531–5.
- Zare R. A revision of plant-associated *Verticillium* species. *Rostaniha*. 2003; 4: 29 – 54.
- Zhang N., Castelbury L. A., Miller A. N., Huhndorf A. M., Schoch C. L., Seifert K. A., Rossman A. Y., Rogers J. D., Volkmann-Kohlmeyer B., Sung G. H. An overview of the systematics of the *Sordariomycetes* based on a four-gene phylogeny. *Mycologia*. 2006; 98(6):1076-1087.

KVANTIFIKACIJA IN DOLOČANJE GLIVE *Verticillium albo-atrum* V HMELJU (*Humulus lupulus*) Z UPORABO PCR V REALNEM ČASU

Tanja GUČEK⁸, Nataša ŠTAJNER⁹ in Sebastjan RADIŠEK¹⁰

Izvirni znanstveni članek / original scientific article

Prispelo / received: 15. oktober 2015

Sprejeto / accepted: 13. november 2015

Izvleček

Verticilijska uvelost hmelja, ki jo povzročata glivi *Verticillium albo-atrum* in *V. dahliae* spada med najnevarnejše bolezni hmelja. V Sloveniji se na hmelju pojavlja predvsem okužba z glivo *V. albo-atrum*, ki je lahko blaga (patotip PG1) ali pa letalna (patotip PG2). Za določanje gliv rodu *Verticillium* se še vedno pogosto uporabljajo metode, ki temeljijo na morfoloških lastnostih in patogenih testih, ter PCR molekularne tehnike z uporabo specifičnih začetnih oligonukleotidov. Molekularne metode, ki omogočajo kvantifikacijo glive v tkivu ter višjo stopnjo občutljivosti so pri hmelju v rutinskih laboratorijih slabo razvite. V ta namen je bila razvita metoda PCR v realnem času na osnovi Sybr Green kemije, ki omogoča kvantifikacijo in določanje glive *V. albo-atrum* v rastlinskih vzorcih. Na osnovi predhodnih analiz markerjev AFLP in SCAR so bili načrtovani začetni oligonukleotidi, ki omogočajo specifično določanje posameznih vrst rodu *Verticillium* in ločevanje med patotipoma PG1 in PG2. Zaporedje genov DRH1 in CAC je bilo uporabljeno kot notranja kontrola pomnoževanja, med optimizacijo pa je bila metoda tudi validirana. Metoda PCR v realnem času na osnovi Sybr Green kemije je zelo občutljiva in poleg kvantifikacije omogoča tudi ločevanje med hmeljnima patotipoma PG1 in PG2 glive *V. albo-atrum*, ki sta prisotna v Sloveniji.

Ključne besede: hmelj / *Verticillium* / patotip / PCR v realnem času / Sybr Green

QUANTIFICATION AND DETECTION OF *Verticillium albo-atrum* IN HOP (*Humulus lupulus*) WITH REAL-TIME PCR

Abstract

Hop *Verticillium* wilt caused by the fungus *Verticillium albo-atrum* and *V. dahliae* is one of the most dangerous diseases on hops. In Slovenia, hop is mainly infected by the fungus *V. albo-atrum*, which may occur as mild (PG1 pathotype) or lethal (PG2 pathotype) infection. For the determination of the fungi of the genus *Verticillium* methods based on morphological properties and pathogenic assays are still widely used, as well as molecular PCR techniques using specific primers. Molecular methods that allow quantification of fungi in tissue and a higher level of sensitivity are in routine laboratories for hops still underdeveloped. In the presented project, quantitative PCR based on Sybr Green chemistry, that enables the quantification and identification of *V. albo-atrum* in the plant samples, has been developed. Based on preliminary analyzes of AFLP and SCAR markers, primers that allow specific determination of individual species of the genus *Verticillium* and differentiation between PG1 and PG2 pathotypes, were designed. Sequences of genes DRH1 and CAC were used as an internal control of

⁸ Univ. dipl. biokem., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, e-naslov: tanja.gucek@ihps.si

⁹ Doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-naslov: natasa.stajner@bf.uni-lj.si

¹⁰ Dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, e-naslov: sebastjan.radisek@ihps.si

amplification, and during optimization, the method was also validated. Quantitative PCR based on Sybr Green chemistry is a very sensitive method that enables differentiation between PG1 and PG2 pathotypes present in Slovenia and also their quantification.

Key words: hop / *Verticillium* / pathotype / Real-time PCR / Sybr Green

1 UVOD

Fitopatogene glive rodu *Verticillium* povzročajo uvelost rastlin, ki prizadene njihovo prevajalno tkivo in pri številnih gostiteljih privede do velikih izgub pridelka (Pegg in Brady, 2002). Do nedavnega je rod *Verticillium* vključeval 5 fitopatogenih vrst, med katerimi po agresivnosti in patogenosti s širokim naborom gostiteljskih rastlin, vključno s hmeljem, izstopata glivi *V. albo-atrum* in *V. dahliae* (Barbara in Clewes, 2003; Gams in sod., 2005). Zadnja taksonomska revizija osnovana na obsežni filogenetski analizi in morfoloških lastnostih opisuje 10 vrst, saj so se nekatere vrste razdelile, potrjenih pa je tudi pet novih vrst (Inderbitzin in sod., 2011). Vrsta *V. albo-atrum* v katero so do sedaj bili uvrščeni izolati, ki parazitirajo hmelj, se je razdelila na 3 vrste: *V. albo-atrum*, *V. alfalfe* in *V. nonalfalfe*, medtem ko je vrsta *V. dahliae* ostala nerazdeljena. Tako se hmeljni izolati glede na novo taksonomijo razvrščajo v vrsti *V. nonalfalfe* in *V. dahliae* (Inderbitzin in sod., 2011). Ker nova taksonomska klasifikacija za vrsto *V. nonalfalfe* še ni sprejeta v fitosanitarnih aktih, v tem članku uporabljamo do sedaj uveljavljeno ime *V. albo-atrum*.

Hmelj spada med gospodarsko pomembnejše gostitelje gliv *V. albo-atrum* in *V. dahliae*, na katerem povzročata karantensko bolezen verticiljsko uvelost hmelja (EPPO, 2015). Pojav bolezenskih znamenj pri hmelju je odvisen od virulence glive, odpornosti sorte in abiotičnih dejavnikov. Gliva *V. albo-atrum* je za hmelj lahko letalna, kar pomeni, da rastlina po okužbi odmre, ali pa blaga, ko si rastlina po okužbi opomore, medtem ko *V. dahliae* povzroča samo blago obliko (Radišek in sod. 2004; 2006). Bolezenska znamenja, ki se pojavljajo pri obeh oblikah, so rumenenje, venenje in nekroze listov, katerih robovi so obrnjeni navzgor in hitro odpadejo, ter porjavelo tkivo v spodnjem delu rastline (Down in sod., 2007; Radišek, 2009). Bolezenska znamenja so posledica vdora gliv skozi koreninski sistem v prevajalno tkivo rastline, kjer prisotnost micelija zmoti preskrbo celic z vodo in povzroči odmiranje tkiva. Glive v prevodni sistem sproščajo hidrolitične encime in toksične glikolipide, s katerimi delno razgradijo celično steno in membrano, in tako pridejo do hranil potrebnih za svojo rast. V odmrlem tkivu glive tvorijo trajne organe, ki se s propadom rastline sprostijo v tla (Fradin in Thomma, 2006). Na ta način infekcijski potencial v tleh hitro raste, bolezen pa se z obdelavo širi znotraj nasadov in izven njih ter s tem povzroča večleten izpad pridelka. Iz omenjenega je verticiljsko uvelost hmelja mogoče uspešno preprečevati le s sanacijo tal (premene z negostiteljskimi rastlinami, biofumigacija, razkuževanje tal), s sajenjem odpornih sort, zdravim sadilnim materialom, izvajanjem fitosanitarnih ukrepov in hitrim odkrivanjem žarišč, ki jih omogočajo sistematični nadzori nasadov (Down in sod., 2007; Radišek, 2009).

Pri preprečevanju bolezni in odločanju o obsegu ukrepov ima velik pomen zanesljiva in hitra diagnostika. Klasična diagnostika temelji na določanju morfoloških lastnosti in uporabi patogenih testov. Pri tem se uporabljajo selektivna gojišča, ki posameznim vrstam gliv različno ustrezajo in močno vplivajo na razvoj posameznih morfoloških lastnosti, v primeru patogenih testov pa se izvajajo umetne okužbe rastlin. Glivi *V. albo-atrum* in *V. dahliae* se

ločita predvsem na osnovi trajnih organov, trajnega melaniziranega micelija pri *V. albo-atrum* in tvorbe mikrosklerocijev pri glivi *V. dahliae*. Uporaba klasičnih metod je za namene diagnostičnih analiz pri glivah iz rodu *Verticillium* dolgotrajna in delovno zahtevna, ob enem pa ima nanje velik vpliv okolje, kar lahko vodi do napačne identifikacije (Inderbitzin in sod., 2011; Maurer in sod., 2013). Za identifikacijo gliv je primernejša uporaba različnih molekularnih metod, med katerimi za določevanje vrst prevladuje analiza razlik v ITS (ang. Internal Transcribed Spacer) regijah jedrne rDNA (Gao in Zhang, 2013). Za karakterizacijo gliv rodu *Verticillium* so v uporabi tudi različni začetni oligonukleotidi, ki v verižni reakciji s polimerazo (PCR) namnožijo specifične regije za vrsto ali celo patotip (Nazar in sod., 1991; Robb in sod., 1993; Inderbitzin in sod., 2013).

Za identifikacijo *V. albo-atrum* pri hmelju so bili razviti markerji AFLP (ang. Amplified Fragment Length Polymorphism) in markerji SCAR (ang. Sequence-Characterized Amplified Region), ki omogočajo razlikovanje med manj virulentnim patotipom PG1 in virulentnim PG2, ki v Sloveniji povzroča letalno bolezensko obliko (Radišek in sod., 2003; 2004; 2006). Uporaba molekularnih metod, kot je PCR, omogoča hitrejšo, bolj občutljivo in specifično določanje gliv. Hkrati omogoča tudi določanje mikroorganizmov, ki se jih ne da gojiti na selektivnih gojiščih. Šibka točka uporabe PCR so lažno negativni rezultati, do katerih pride zaradi inhibitorjev, ki jih skupaj z DNA izoliramo iz rastlinskih tkiv in tal, in motijo potek PCR reakcije. Z razvojem novih metod izolacij in tehnike PCR v realnem času (ang. Real-Time PCR, quantitative PCR, qPCR) se te težave odpravljajo, hkrati pa nove tehnike omogočajo tudi kvantifikacijo posameznih gliv v analiziranih substratih. V ta namen smo za hmeljne izolate glive *V. albo-atrum* razvili qPCR na osnovi Sybr Green kemije, ki poleg identifikacije patotipov omogoča tudi neposredno kvantifikacijo v rastlinah.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Rastlinski material

Vzorci hmelja okuženi z glivo *V. albo-atrum* so bili vzorčeni v nasadih hmelja v Savinjski dolini, med letoma 2013 in 2014. Vzorčeno je bilo steblo do višine enega metra nad tlemi. Rastlinski material je bil izbran na podlagi vizualnih bolezenskih znamenj in že potrjenih okužb v hmeljišču in do analize hranjen pri -20°C . Za negativno kontrolo so bili leta 2015 vzorčeni listi brez-virusnih in brez-viroidnih rastlin hmelja, sorte Celeia, gojenega v rastlinjaku Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS). Vzorci zdravih rastlin so bili do analize hranjeni pri 4°C .

2.2 Izolati glive *Verticillium albo-atrum*

Kulture izolatov glive *V. albo-atrum* in *V. dahliae* so bile pridobljene iz zbirke škodljivih organizmov Laboratorija za varstvo rastlin na IHPS. Izolati v zbirki so bili okarakterizirani z morfološki deskriptorji in molekularnimi analizami do ravni posameznih patotipov. Za namene analize so bili izolati kot duplikati precepljeni na PDA (ang. Potato Dextrose Agar) trdna gojišča in vsaj 1 teden inkubirani v temi pri sobni temperaturi. Pred DNA izolacijo so bili s svetlobnim mikroskopom morfološko pregledani za potrditev prisotnosti trosonoscev tipičnih za rod *Verticillium*.

2.3 Izolacija DNA iz rastlinskega materiala in gliv

Celokupna genomska DNA iz okuženih in zdravih rastlin hmelja je bila izolirana z uporabo CTAB metode (Kump in Javornik, 1996). Iz okuženih rastlin je bila DNA izolirana iz sredice stebela, ki je bila zmleta v terilnici v CTAB ekstrakcijskem puftru. Na enak način je bila izolirana tudi DNA iz zdravih rastlin hmelja, vendar so bili v tem primeru namesto stebela uporabljeni listi.

V primeru izolatov gliv je bila DNA izolirana iz čiste kulture, micelija, ki je bil s sterilnim skalpelom postrgan z gojišča. Micelij je bil v terilnici zmlet skupaj z nekaj zrnci kremenčevega peska in CTAB pufrom. DNA iz gliv je bila izolirana po enaki metodi kot DNA iz rastlinskega materiala (Kump in Javornik, 1996). Pri vsaki izolaciji je bil za kontrolo izolacije uporabljen dodaten zdrav vzorec hmelja, med samo PCR reakcijo pa je bila uspešnost izolacije DNA potrjena tudi z uporabo začetnih oligonukleotidov za notranjo kontrolo pomnoževanja (poglavje 2.5).

2.4 Merjenje koncentracije izolirane DNA

Koncentracija izolirane DNA iz rastlinskega materiala in gliv je bila izmerjena z uporabo fluorometra Qubit® 3.0 Fluorometer (Life Technologies), kvaliteta izolacije pa je bila izmerjena z uporabo spektrofotometra BioPhotometer D30 (Eppendorf) glede na razmerje absorbance pri 260 nm in 280 nm ($A_{260/280}$).

2.5 Načrtovanje začetnih oligonukleotidov

Začetni oligonukleotidi so bili načrtovani na podlagi rezultatov analize markerjev AFLP in SCAR (Radišek in sod., 2003; 2004) z uporabo programa Primer Express 3.0.0 Applied Biosystems software. Zaporedja posameznih fragmentov AFLP, ki so bili osnova za načrtovanje, se nahajajo v bazi GenBank, ki jo ureja NCBI (The National Center for Biotechnology Information) pod pristopnimi številkami: AY518585, AY534125, AY534126, AY534127, AY534128, AY534129, AY534130, AY534131, AY534132, AY534133, AY534134, AY534135, AY534136, AY534137, AY534138 in AY534139 (Radišek in sod., 2004). Glivna DNA je bila namnožena z uporabo specifičnih začetnih oligonukleotidov za glivo *V. albo-atrum* in začetnih oligonukleotidov specifičnih za hmeljna patotipa PG1 in PG2 (preglednica 1). Začetni oligonukleotidi za gena DRH1 (ang. DEAD box RNA helicase) in CAC (ang. Clathrin adaptor complexes medium subunit), ki sta služila kot notranja kontrola pomnoževanja, so bili uporabljeni kot predhodno opisano v Štajner in sod. (2013) ter Cregeen in sod. (2014).

2.6 PCR v realnem času

PCR v realnem času je bil izveden z uporabo Fast SYBR Green kemije na detekcijskem sistemu LightCycler 96 (ROCHE). Vse reakcije qPCR smo izvedli z uporabo kita FastStart Essential DNA Green Master (ROCHE). Reakcijska mešanica (10 μ L) je vsebovala: 5 μ L FastStart Essential DNA Green Master komponente, 50 ng DNA in 500 nM vsakega začetnega oligonukleotida. Amplifikacija je bila izvedena s temperaturnim profilom: 95°C 10 min, 45 ciklov na 95°C 30s, 60°C 30s in 72°C 30s, na koncu je bilo izvedeno še taljenje: 95°C

10s, 65°C 60s in 97°C 1s. Vsi vzorci so bili namnoženi v treh tehničnih ponovitvah istega DNA vzorca. Za vsak par začetnih oligonukleotidov smo dodali po dve negativni kontroli (namesto DNA je bila uporabljena sterilna voda), kot prvi in zadnji vzorec pri pipetiranju. Raven pomnoževanja posameznega produkta je bila določena kot Cq vrednost, ki predstavlja število ciklov potrebnih, da se doseže prag fluorescence (fluorescenca produkta je večja od fluorescenca ozadja) v eksponenti fazi PCR reakcije.

Preglednica 1: Zaporedja posameznih začetnih oligonukleotidov, uporabljena za določanje patotipa PG1 in PG2 glive *V. albo-atrum* in za pomnoževanje notranje kontrole (DRH1 in CAC)

Table 1: Primer sequences for detection of PG1 and PG2 pathotype of *V. albo-atrum* and amplification of the internal control (DRH1 and CAC)

Patotip	Začetni oligonukleotid	Zaporedje 5'-3'
PG1 + PG2	ITS1-ITS2-F1	GCAGCGAAACGCGATATGT
	ITS1-ITS2-R1	GCATGCCTCCCAGGATACTG
PG1 + PG2	ITS1-ITS2-F2	CTCATAACCCTTTGTGAACCATATTG
	ITS1-ITS2-R2	GTTCGCTAAGAACACTCAGAAGTATCG
PG1 + PG2	4bgs-F1	AGAACAGACACCAGAGGTGCAA
	4bgs-R1	GAAGGAGAGGTGGCGACAAC
PG1 + PG2	4cgs-F1	TGAAGAGGGAAGAGATGGCTTT
	4cgs-R1	ACCCACCGCACCTTCCA
PG1 + PG2	9-1gs-F1	GGTAACGTCATCGAACGACATC
	9-1gs-R1	CACACGCTACATATCAAACAGCATAT
PG2	5-1gs-F1	GAGCGGGTCGATACGATTCA
	5-1gs-R1	GGTGATGTCCAGCACAGTGATAC
PG1	10-1gs-F1	AGCCCCGTGCGCTGTAAT
	10-1gs-R1	GTTCCCTACATGGCAGCTTCA
Notranja kontrola	Začetni oligonukleotid	Zaporedje 5'-3'
DRH1	DRH1-F	CCAACCTACTGGGCTTCGAC
	DRH1-R	CAGAATGGGTATGATCGGGC
CAC	CAC-F1	CTGGCCATGTGAGAATTTTCCTT
	CAC-R1	CTCGCAATTTTGTCACTACAACA

PCR v realnem času je bil preverjen glede na vpliv oziroma inhibicijo rastlinske DNA na pomnoževanje glivne DNA. V ta namen je bila vzorcu glivne DNA (100 ng, 10 ng, 1ng) dodana DNA izolirana iz zdravega hmelja (1 µg in 500 ng). Iz rezultatov je bilo razvidno, da prisotnost rastlinske DNA ne vpliva na pomnoževanje glivne DNA, kajti Cq vrednosti so ostale nespremenjene.

Učinkovitost pomnoževanja je bila izračunana za vsako namnoženo tarčno zaporedje z uporabo programa LightCycler96 SW 1.1 (ROCHE), na osnovi naklona standardne krivulje. Za standardno krivuljo je bila uporabljena DNA izolirana iz čiste kulture s serijo redčitev:

100, 10, 1, 0.1, 0.01 in 0.001 ng. Prisotnost namnoženega produkta z ustrežno velikostjo je bila potrjena z nanosom na 2 % agarozni gel. Na osnovi analize talilnih krivulj je bila potrjena specifičnost pomnoževanja za posamezen par začetnih oligonukleotidov. Normalizacija je bila narejena na osnovi notranje kontrole DRH1 in CAC z uporabo $\Delta\Delta$ Cq metode, kot predhodno opisano v Štajner in sod. (2013). V zdravih vzorcih hmelja se z uporabo PCR v realnem času gliva *V. albo-atrum* ni namnožila.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

Namen laboratorijskega dela je bil razviti hitro in občutljivo metodo za kvantifikacijo in določanje patotipov glive *V. albo-atrum* v trtah hmelja. V ta namen je bil razvit PCR v realnem času na osnovi Sybr Green kemije, ki omogoča pomnoževanje tarčnih regij pri DNA vzorcih glive (izoliranih z uporabo CTAB metode).

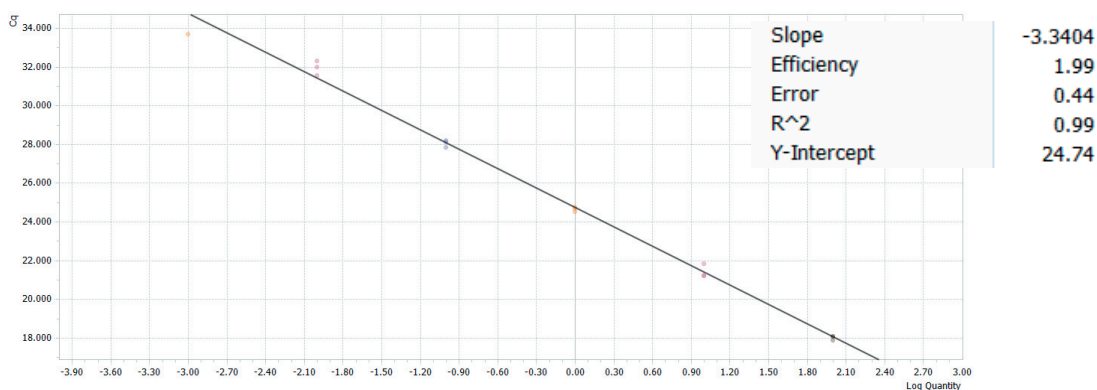
3.1 Izolacija in koncentracija DNA

Uporaba CTAB metode za izolacijo DNA iz rastlinskega tkiva, se je izkazala kot zelo učinkovita, koncentracije izmerjene s fluorometrom so bile med 200 in 700 ng/ μ L, razmerje $A_{260/280}$ vzorcev pa je bilo $\sim 1,9$. Pri izolaciji gliv iz čiste kulture so bili rezultati nekoliko slabši, kajti koncentracije izmerjene s fluorometrom so bile med 50 in 100 ng/ μ L, razmerje $A_{260/280}$ pa je bilo $\sim 1,7$, pri čemer so bile vrednosti nižje zaradi prisotnost gojišča, ki je bilo skupaj z glivo postrgano pri izolaciji.

3.2 Učinkovitost pomnoževanja in specifičnost začetnih oligonukleotidov

Za vsak posamezen par začetnih oligonukleotidov navedenih v preglednici 1 je bila z uporabo standardne krivulje določena učinkovitost pomnoževanja reakcije. Standardna krivulja predstavlja odvisnost logaritma znane koncentracije redčene DNA od Cq vrednosti. Učinkovitost pomnoževanja s posameznimi pari začetnih oligonukleotidov je znašala od 97 % do 116 %. Kot par začetnih oligonukleotidov z najbolj optimalno učinkovitostjo za pomnoževanje *V. albo-atrum* se je izkazal 9-1gs-F1/R1 z učinkovitostjo 99 % (slika 1).

Z namenom določitve specifičnosti PCR reakcije v realnem času, so bili pari začetnih oligonukleotidov testirani na različnih izolatih gliv *V. albo-atrum* in reprezentativnem izolatu *V. dahliae* (preglednica 2). Začetni oligonukleotidi ITS1-ITS2-F1/R1, ITS1-ITS2-F2/R2, 4bgs-F1/R1 in 4cgs-F1/R1 so specifični tako za PG1 kot tudi PG2 patotip *V. albo-atrum*. Oba patotipa pomnoži tudi par začetnih oligonukleotidov 9-1gs-F1/R1, ki pa je hkrati specifičen tudi za glivo *V. dahliae*. Par začetnih oligonukleotidov 5-1gs-F1/R1 je specifičen za PG2 patotip in ne pomnožuje PG1 izolatov in glive *V. dahliae*. Par začetnih oligonukleotidov 10-1gs-F1/R1, naj bi glede na rezultate analiz markerjev SCAR (Radišek in sod., 2004), pomnoževal samo patotip PG1, čeprav pomnoži tudi izolata PG2 (Ciglarica 4, Ciglarca 3, Betonka), pri katerih pa so Cq vrednosti glede na ostale pozitivne vzorce visoke (Cq= ~ 33 , drugače Cq= 22- 27). Par začetnih oligonukleotidov 10-1gs-F1/R1 poleg patotipa PG2 pomnoži tudi izolat Rec (patotip PG1), prav tako pa pomnoži tudi glivo *V. dahliae*.



Slika 1: Učinkovitost reakcije qPCR za par začetnih oligonukleotidov 9-1gs-F1/R1 specifičnih za patotipa PG1 in PG2 glive *V. albo-atrum*. Naklon je -3,3404, R^2 je 0,99, učinkovitost se izračuna po enačbi $E = ((10-1/\text{naklon}) - 1) * 100 = 99 \%$.

Figure 1: Efficiency of qPCR reaction for 9-1gs-F1/R1 primer pair specific for pathotype PG1 and PG2 *V. albo-atrum*. Slope is -3.3404, R^2 is 0.99, efficiency is calculated by the equation $E = ((10-1/\text{slope}) - 1) * 100 = 99 \%$.

Preglednica 2: Testirani izolati gliv *V. albo-atrum* in *V. dahliae* iz hmelja in specifičnost posameznih začetnih oligonukleotidov

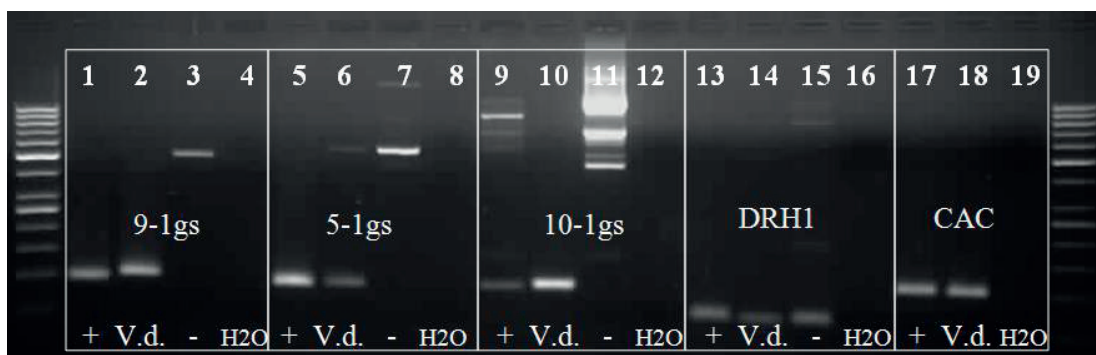
Table 2: Tested isolates of fungi *V. albo-atrum* and *V. dahliae* from hop and specificity of each primer

Rod	Izolat	Patotip *	Začetni oligonukleotid						
			ITS-F1/R1	ITS-F2/R2	4bgs	4cgs	5-1gs	9-1gs	10-1gs
<i>V. albo-atrum</i>	Ciglarica 4	PG2	+	+	+	+	+	+	
<i>V. albo-atrum</i>	Ciglarca 3	PG2	/*	/	/	/	+	+	+
<i>V. albo-atrum</i>	Betonka	PG2	/	/	/	/	+	+	+
<i>V. albo-atrum</i>	T2	PG2	+	+	+	+	+	+	-
<i>V. albo-atrum</i>	Uršič	PG2	/	/	/	/	+	+	/
<i>V. albo-atrum</i>	Rec	PG1	/	/	/	/	-	+	+
<i>V. albo-atrum</i>	Zup	PG1	+	+	+	+	-	+	+
<i>V. dahliae</i>	Ormož	-	/	/	/	/	-	+	+

*PG2= letalna oblika, PG1= blaga oblika, /= ni bilo testirano

Rezultati PCR v realnem času so si z omenjeno analizo markerjev SCAR (Radišek in sod., 2004) nekoliko nasprotujoči, pri slednji naj bi namreč par začetnih oligonukleotidov 9-1gs specifično namnožil samo PG2 patotip, par 10-1gs pa samo PG1 patotip. Razlog za razlike je lahko v samem načrtovanju začetnih oligonukleotidov (začetni oligonukleotidi za PCR reakcijo v realnem času so bili na novo načrtovani na osnovi zaporedij markerjev SCAR (Radišek in sod., 2004)), saj so za pomnoževanje v realnem času bolj primerni krajši produkti. Pri pristopu SCAR pomnoževanja se je pri načrtovanju začetnih oligonukleotidov upoštevalo restriksijsko mesto AFLP markerja, ki je bilo prisotno oziroma odsotno pri patotipih in na ta način se je med drugim dosegla specifičnost pomnoževanja. Zaradi velike podobnosti med zaporedji gliv patotipa PG1 in PG2 pa lahko pride do spremembe v specifičnosti pomnoževanja omenjenih začetnih oligonukleotidov.

Ob rezultatih, ko določena Cq vrednost za posamezen vzorec zelo izstopa, kar je lahko rezultat nespecifičnega pomnoževanja, je potrebno za isti vzorec uporabiti več parov začetnih oligonukleotidov z različno specifičnostjo pomnoževanja, prav tako pa je poleg analize talilnih krivulj, smiselno velikost namnoženih produktov preveriti tudi na agaroznem gelu. Slika 2 prikazuje nanos vzorcev PCR reakcije v realnem času na 2 % agarozni gel, na katerem so prikazani različni produkti 9-1gs, 5-1gs, 10-1gs, DRH1 in CAC začetnih oligonukleotidov. Iz gela je razvidno, da se na primer v vzorcu zdravega hmelja (-) lahko namnožijo produkti drugačnih velikosti (~700 bp) kot pričakovano (~100 bp), kar pomeni, da je lahko prišlo do nespecifičnega pomnoževanja. Tako obstaja možnost, da lahko na podlagi gela ovržemo lažno pozitivne rezultate. Geni DRH1 in CAC se namnožita v vseh vzorcih (slika 2) in tako služita kot referenca in hkrati notranja kontrola pomnoževanja.

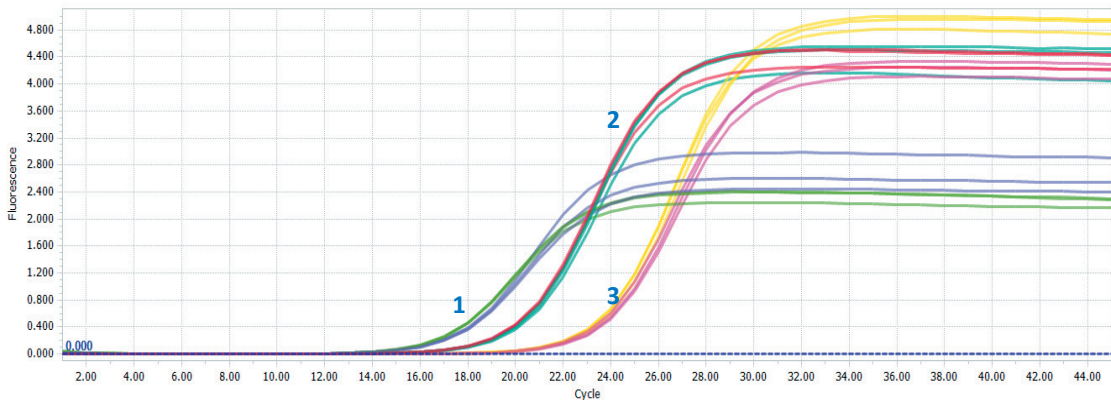


Slika 2: Nanos produktov reakcije PCR v realnem času na 2 % agarozni gel. Vzorci od 1-4: produkt začetnih oligonukleotidov 9-1gs-F1/R1, od 5-8: 5-1gs-F1/R1, od 9-12: 10-1gs-F1/R1, od 13-16: DRH1-F/R in od 17-19: CAC-F1/R1. Na gelu so vidni pozitivni signali (velikost= ~100 bp) vzorcev glive *V. albo-atrum* (+) (PG2), glive *V.dahliae* (V.d.), vzorcev zdravega hmelja (-) in negativne kontrole (H₂O). Z uporabo začetnih oligonukleotidov za notranjo kontrolo (DRH1 in CAC) se namnožijo tako pozitivni, kot tudi negativni vzorci (velikost za DRH1= ~50 bp, za CAC= ~100 bp).

Figure 2: Products of the Real-time PCR reaction on a 2% agarose gel. Samples from 1-4: product of primers 9-1gs-F1/R1, from 5-8: 5-1gs-F1/R1, from 9-12: 10-1gs-F1/R1, from 13-16: DRH1- F/R and from 17 to 19: CAC-F1/R1. In the gel there are positive signals (size= ~100 bp) from samples of *V. albo-atrum* (+) (PG2), fungi *V.dahliae* (Vd), samples of healthy hops (-) and negative control (H₂O). With the use of primers for amplification of the internal control (DRH1 and CAC) positive as well as negative samples are amplified (size for DRH1= ~50 bp, for CAC= ~100 bp).

3.3 Analiza reakcije qPCR

V okviru razvoja reakcije qPCR za kvantifikacijo glive *V. albo-atrum* je bilo analiziranih sedem različnih izolatov glive *V. albo-atrum* in en izolat glive *V. dahliae* (preglednica 2). Vzorci gliv izoliranih iz čiste kulture so bili v reakciji qPCR testirani v različnih koncentracijah: 100 ng, 10 ng, 1 ng (slika 3) in 0.1 ng, 0.01 ng in 0.001 ng (slika 4). Na sliki 3 so prikazane krivulje pomnoževanja za *V. albo-atrum* namnoženega z uporabo začetnih oligonukleotidov 9-1gs-F1/R1. Na sliki so prikazani trije različno redčeni vzorci s Cq vrednostmi 16 (100 ng), 19 (10 ng) in 22 (1 ng) pri prazni vrednosti 0,2.



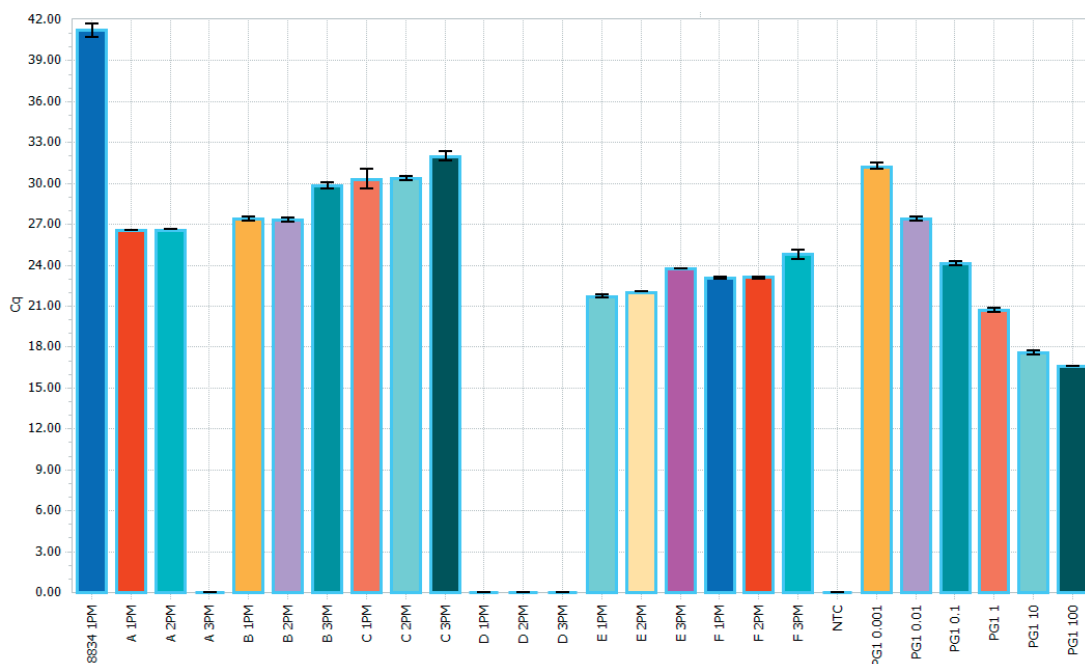
Slika 3: Krivulje pomnoževanja za *V. albo-atrum* s parom začetnih oligonukleotidov 9-1gs-F1/R1. Prikazani vzorci predstavljajo serijo redčitev, pri čemer ima vzorec označen z 1 z najvišjo koncentracijo (100 ng) najnižjo Cq vrednost (16), vzorec 2 s koncentracijo 10 ng ima Cq= 19, in vzorec 3 z najnižjo koncentracijo (1 ng) ima najvišjo Cq vrednost (22).

Figure 3: Curves of amplification for *V. albo-atrum* with primer pair 9-1gs-F1/R1. Displayed samples representing a series of dilutions, whereby sample 1 has the lowest Cq value (16) and the highest concentration (100 ng), sample 2 has Cq = 19 and a concentration of 10 ng, sample 3 has the highest Cq value (22) and the lowest concentration (1 ng).

Na vzorcih gliv izoliranih iz okuženega hmelja je bila narejena serija redčitev: 10^0 , 10^1 , 10^2 , vzorcev označenih s črkami od A do F pri čemer vzorci A (10^0), B (10^1) in C (10^2) predstavljajo patotip PG1, vzorci D (10^0), E (10^1) in F (10^2) pa patotip PG2 (slika 4). V primeru neredčenega vzorca D (slika 4) je najverjetneje prišlo do inhibicije reakcije qPCR, zato sta za analizo primernejši redčitvi 10^1 oziroma 10^2 , med katerima ni bilo večjih razlik v Cq vrednostih. Najvišjo Cq vrednost (41) je imel vzorec 8834, zdrav hmelj, ki je negativen, torej ni bil okužen z glivo, kar pomeni, da je verjetno prišlo do nespecifičnega pomoževanja (slika 4). Hkrati z redčitvami so bile pri posameznih vzorcih testirane tudi različne koncentracije začetnih oligonukleotidov (1PM= 500 nM, 2PM= 300 nM, 3PM= 100 nM; slika 4).

Z namenom razvoja reakcije qPCR za specifično določanje glive *V. albo-atrum* je bilo testiranih sedem parov začetnih oligonukleotidov in dva gena, ki sta služila kot notranja kontrola pomnoževanja (preglednica 1). Za nadaljnjo uporabo so bili izbrani trije pari začetnih oligonukleotidov (9-1gs, 10-1gs, 5-1gs), ki ob skupni uporabi omogočajo ločevanje med posameznima patotipoma. Par 9-1gs je bil izbran zaradi zelo visoke učinkovitosti pomnoževanja in dosedanjih rezultatov analize markerjev SCAR (Radišek in sod., 2004), ne glede na to, da je pomnožil tudi glivo *V. dahliae*. Za določitev letalnega patotipa je bil izbran par 5-1gs, medtem ko je bil par 10-1gs izbran kot primeren za določevanje nekaterih PG1 izolatov (preglednica 2). Izbrani začetni oligonukleotidi so bili v reakciji qPCR testirani v treh različnih koncentracijah: 100 nM, 300 nM in 500 nM (slika 4). Najnižje Cq vrednosti so imeli vzorci s 500 nM koncentracijo 9-1gs, vendar glede na 300 nM koncentracijo skoraj ni bilo opaziti razlike. Za pomnoževanje je primernejša nižja koncentracija (300 nM), saj se tako izognemo nastanku dimerov. Uporaba 100 nM koncentracije začetnih oligonukleotidov pa

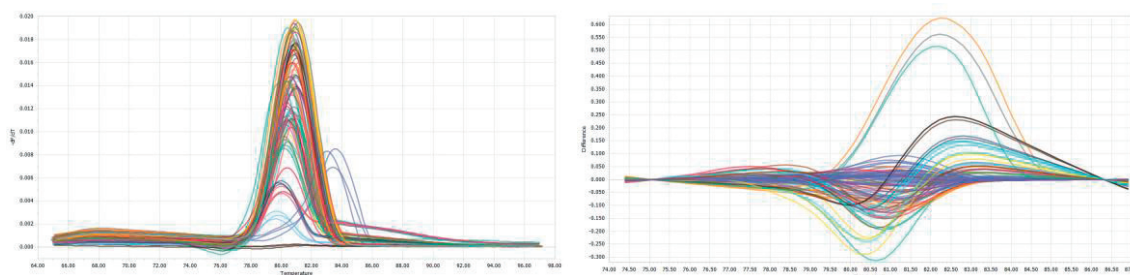
glede na naše rezultate ni priporočljiva zaradi možnosti lažno negativnih rezultatov (vzorec A 3PM, slika 4).



Slika 4: Cq vrednosti različno redčenih vzorcev pri različnih koncentracijah začetnih oligonukleotidov 9-1gs-F1/R1. Vzorec 8834 je zdrav hmelj. Vzorca glive *V. albo-atrum* A in D sta neredčena, B in E sta 10x redčena, C in F pa 100x redčena. Oznaka 1PM= 500 nM, 2PM= 300 nM, 3PM= 100 nM. Na sliki so prikazane tudi Cq vrednosti za standardno krivuljo za patotip PGI s koncentracijami od 0,001 ng do 100 ng. NTC= negativna kontrola.

Figure 4: Cq values of different diluted samples with different concentrations of primers 9-1gs-F1/R1. Sample 8834 is a healthy hops. Samples of *V. albo-atrum* A and D are not dilluted, B and E are 10x diluted, C and F are 100x diluted. Lable 1PM= 500 nM, 2PM= 300 nM, 3PM= 100 nM. The figure also shows the Cq values for the standard curve for PGI pathotype with concentrations of 0.001 ng to 100 ng. NTC = negative control.

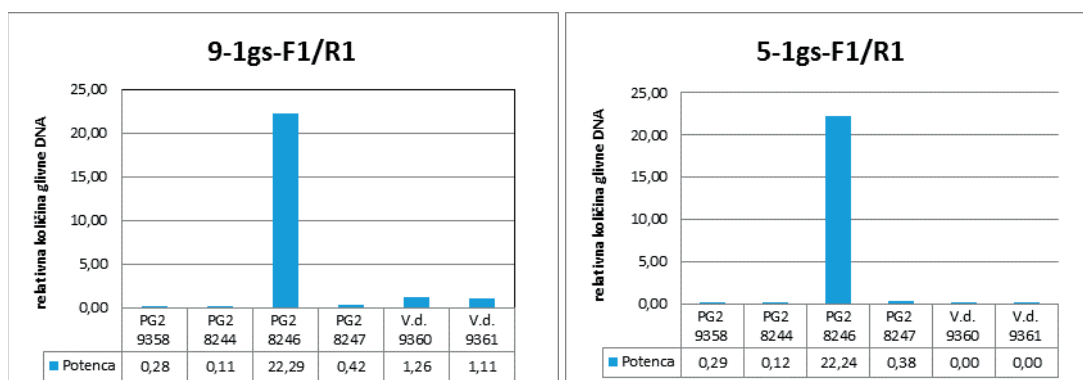
Pri testiranju specifičnosti reakcije qPCR smo analizirali rezultate analize talilnih krivulj, ki na osnovi segregiranja DNA in posledično denaturacije, omogočajo ločevanje med posameznimi namnoženimi produkti. Na sliki 5 (levo) so prikazane talilne krivulje za par 9-1gs-F1/R1, ki lahko namnoži tako PG1 kot PG2 patotip. Iz slike je razvidno, da se vsi vzorci ustrezno namnožijo, odstopajo samo trije, z višjo talilno temperaturo, ki pa so vzorci zdravega hmelja in kot smo dokazali z nanosom PCR produkta na agarozni gel so ti produkti veliko daljši od pričakovanih. Na tak način lahko zelo enostavno ločimo med namnoženimi tarčnimi in nespecifičnimi produkti in tako določimo lažno pozitivne rezultate. Na zelo podoben način, prav tako na osnovi talilnih krivulj, lahko razlike med produkti razberemo tudi iz HRM (ang. high resolution melting) analiz, kar prikazuje slika 5 desno.



Slika 5: HRM analize glive *V. albo-atrum*. Levo: Talilne krivulje za vzorce glive *V. albo-atrum* pri uporabi začetnih oligonukleotidov 9-1gs-F1/R1. Talilna temperatura za primerja 9-1gs-F1/R1 je okrog 81°C. Trije vzorci s talilno temperaturo okrog 84°C so vzorci zdravega hmelja. Desno: Slika razlik med namnoženimi produkti pri uporabi začetnih oligonukleotidov 9-1gs-F1/R1. Tri krivulje, ki imajo višjo vrh kot ostale, predstavljajo vzorec zdravega hmelja. **Figure 5:** HRM analysis of *V. albo-atrum*. Left: Melting curves of samples of *V. albo-atrum* using primers 9-1gs-F1/R1. The melting temperature of primers 9-1gs-F1/R1 is about 81°C. Three samples with a melting temperature of about 84°C are samples of healthy hops. Right: Differences plot of the amplified products with the use of primers 9-1gs-F1/R1. The three curves, which have higher top than the other, represent a sample of a healthy hop.

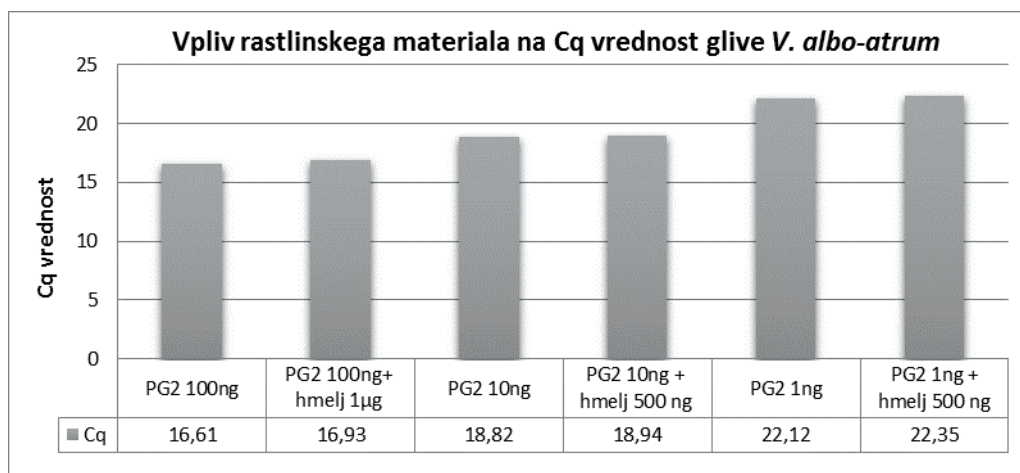
Na osnovi C_q vrednosti vzorcev gliv in obeh notranjih kontrol pomnoževanja (DRH1 in CAC), je bila določena relativna količina glive v posameznem vzorcu z uporabo metode $\Delta\Delta$ C_q (Štajner in sod., 2013) (slika 6). Pri normalizaciji je bila upoštevana tudi učinkovitost pomnoževanja posameznih začetnih oligonukleotidov. Iz rezultatov slike 6 je razvidno, da je par 5-1gs-F1/R1, specifičen za PG2 patotip in ne namnoži glive *V. dahliae*, medtem ko par 9-1gs-F1/R1 poleg patotipa PG2, lahko namnoži tudi glivo *V. dahliae*. Med posameznimi vzorci patotipa PG2 je vidna razlika v količini namnožene glive, ki je pri vzorcu 8246 glede na ostale PG2 vzorce zelo visoka. Pri 9-1gs-F1/R1 se namnoži tudi *V. dahliae*, katere pa je glede na vzorec 8246 skoraj 20 x manj (slika 6).

Test qPCR za določanje in kvantifikacijo glive *V. albo-atrum* je bil validiran na vpliv oziroma inhibicijo rastlinskega materiala na samo pomnoževanje glive. V ta namen je bila vzorcem glive dodana 10x oziroma 50x koncentracija rastlinskega materiala (DNA izolirana iz zdravega hmelja) (slika 7). Ne glede na dodano količino rastlinske DNA (hmelj), so se C_q vrednosti dobljene v primeru pomnoževanja čiste glivne DNA in glivne DNA mešane s hmeljno DNA minimalno razlikovale (za 0,1 – 0,3 C_q vrednosti), kar je verjetno posledica tehnične variabilnosti.



Slika 6: Graf odvisnosti relativne količine glivne DNA glede na posamezen vzorec glive *V. albo-atrum* in *V. dahliae*. Levo: Glivna DNA pomnožena s parom začetnih oligonukleotidov 9-1-gs-F1/R1, ki kaže veliko količino glive patotipa PG2 (vzorec 8246). Desno: Glivna DNA pomnožena s parom začetnih oligonukleotidov 5-1gs-F1/R1, ki je specifičen samo na PG2 (velika količina pri vzorcu 8246), glive *V. dahliae* pa ne namnoži.

Figure 6: Graph of dependence of the relative amounts of fungal DNA for each sample of *V. albo-atrum* and *V. dahliae*. Left: Fungal DNA amplified with a pair of primers 9-1-gs-F1/R1, which indicates a large amount of fungi PG2 pathotype (sample 8246). Right: Fungal DNA amplified with a pair of primers 5-1gs-F1/R1, which is specific only to PG2 (a large amount in sample 8246), the fungus *V. dahliae* is not amplified.



Slika 7: Vpliv rastlinskega materiala na pomnoževanje glive *V. albo-atrum*. Graf prikazuje odvisnost Cq vrednosti od posameznega vzorca. Ne glede na dodano količino rastlinskega materiala (hmelj), se Cq vrednosti glede na samo glivno DNA (PG2) drastično ne razlikujejo.

Figure 7: Effect of plant material on the amplification of *V. albo-atrum*. The graph shows the dependence of Cq values from individual samples. Regardless of the added amount of the plant material (hops), the Cq values with respect to fungal DNA alone (PG2) drastically don't differ.

4 ZAKLJUČEK

PCR v realnem času je zelo občutljiva metoda za določanje gliv *V.albo-atrum* in *V. dahliae*, ki je primerna za uporabo v rutinskih testiranjih ter pri epidemioloških študijah. V kombinaciji s CTAB izolacijo je lahko analiza zelo hitra, saj privede do rezultata v enem oziroma dveh dneh, medtem ko je postopek z uporabo selekcijskih gojišč vsaj trikrat daljši. Prav tako se v primerjavi z do sedaj vpeljano PCR metodo izognemo postopku agarozne elektroforeze.

Zaradi zelo zahtevnega načrtovanja začetnih oligonukleotidov je specifična določitev posameznega patotipa glive *V. albo-atrum* z uporabo samo enega para začetnih oligonukleotidov praktično nemogoča. Uporaba več različnih parov začetnih oligonukleotidov, kot so 9-1gs, 5-1gs in 10-1gs, omogoča natančno določitev tako rodu, vrste in patotipa gliv, zato bi bilo v nadaljnje smiselno razviti hkratno reakcijo qPCR (ang. multiplex qPCR). Najprej se z uporabo 9-1gs potrdi prisotnost gliv *V. albo-atrum* in *V. dahliae*, nato se s 5-1gs določi oziroma ovrže PG2 patotip in gliva *V. dahliae*, nato pa še z 10-1gs potrdi oziroma ovrže PG1 patotip. Pri samem določevanju nam lahko pomaga tudi analiza talilne krivulje in HRM analiza ter dodatno, za preverjanje rezultatov še nanos na agarozni gel, na ta način lahko ovržemo lažno negativne oziroma lažno pozitivne rezultate.

PCR v realnem času je primeren tudi za kvantifikacijo gliv v rastlinskem tkivu, ki je mogoča ob uporabi genov za notranjo kontrolo (t.i. referenčnih ali vzdrževalnih genov), ki se nahajajo v hmelju in naj bi bili enako izraženi ne glede na zunanje vplive. Omenjeni geni omogočajo normalizacijo rezultatov, in s tem tudi natančno kvantifikacijo, saj na osnovi teh genov izničimo vso variabilnost, ki je lahko posledica napačne kvantifikacije DNA (Vandesompele in sod., 2002). Zaradi višje občutljivosti detekcije in manjšega vpliva inhibitorjev se lahko v bodoče metoda qPCR vpelje tudi v rutinska testiranja tal, ki so za pridelovalce pomembna pred zasnovo novih nasadov ali pri ocenjevanju učinkovitosti ukrepov nižanja talnega infekcijskega potenciala glive.

5 VIRI

- Barbara, D.J. in Clewes, E. Plant pathogenic *Verticillium* species: how many of them are there? *Mol Plant Pathol.* 2003; 4: 297–305.
- Cregeen, S., Radišek, S., Mandelc, S., Turk, B., Štajner, N., Jakše, J. in Javornik, B. Different gene expressions of resistant and susceptible hop cultivars in response to infection with a highly aggressive strain of *Verticillium albo-atrum*. *Plant Mol Biol Rep.* 2014; DOI 10.1007/s11105-014-0767-4.
- Down, G., Barbara, D. in Radišek, S. *Verticillium albo-atrum* and *V. dahliae* on hop. *Bull OEPP.* 2007; 37: 528-535.
- EPPO, 2015, <http://www.eppo.int/QUARANTINE/listA2.htm>, citirano 12.10.2015.
- Fradin, E. F. in Thomma, B. P. H. J. Physiology and molecular aspect of *Verticillium* wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo atrum*. *Molecular Plant Pathology.* 2006; 7 (2): 71-86.
- Gams, W., Zare, R., Summerbell, R.C. Proposal to conserve the generic name *Verticillium* (anamorphic *Ascomycetes*) with a conserved type. *Taxon.* 2005; 54: 179.
- Gao, R., in Zhang, G. Potential of DNA barcoding for detecting quarantine fungi. *Phytopathology.* 2013;103:1103-1107.
- Inderbitzin, P., Bostock, R.M., Davis, M., Usami, T., Platt, H.W. in Subbarao, K.V. Phylogenetics and Taxonomy of the fungal vascular wilt pathogen *Verticillium*, with the descriptions of five new species. *PLoS ONE.* 2011; 6(12): e28341. Doi:10.1371/journal.pone.0028341.

- Inderbiztin, P., Davis, R.M., Bostock, R.M., Subbarao, K.V. Identification and Differentiation of *Verticillium* Species and *V. longisporum* Lineages by Simplex and Multiplex PCR Assay. *PLoS ONE*. 2013; 8, 6: e65990, doi:10.1371/journal.pone.0065990
- Kump, B. in Javornik, B. Evaluation of genetic variability among common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) populations by RAPD markers. *Plant Science*. 1996; 114: 149-159.
- Maurer, K.A., Radišek, S., Berg, G. in Seefelder, S. Real-time PCR assay to detect *Verticillium albo-atrum* and *V. dahliae* in hops: development and comparison with a standard PCR method. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2013; 120(3): 105-114.
- Nazar, R.N., Hu, X., Schmid, T.J., Culham, D., Robb, J. Potential use of PCR-amplified detection and differentiation of *Verticillium* wilt pathogens. *Physiological and molecular Plant Pathology*. 1991; 39: 1-11.
- Pegg, G. F. in Brady, B. L. *Verticillium* Wilts. Wallingford, *CABI Publishing*. 2002; 552 str.
- Radišek, S. *Verticillium* Wilt. V: Mahaffee, Walter F. (ur.), Pethybridge, Sarah J. (ur.), Gent, David H. (ur.). *Compendium of hop diseases and pests*. St. Paul (Minnesota): The American Phytopathological Society, cop. 2009: 33-36.
- Radišek, S., Jakše, J., Simončič, A. in Javornik, B. Characterization of *Verticillium albo-atrum* Field Isolates Using Pathogenicity Data and AFLP Analysis. *Plant Disease*. 2003; 87: 633-638.
- Radišek, S., Jakše, J. in Javornik, B. Development of pathotype specific SCAR markers for detection of *Verticillium albo-atrum* isolates from hop. *Plant Disease*. 2004; 88: 1115-1122.
- Radišek S., Jakše, J. in Javornik, B. Genetic variability and virulence among *Verticillium albo-atrum* isolates from hop. *European Journal of Plant Pathology*. 2006; 116: 301-314.
- Robb, J., Moukhamedov, R., Hu, X., Platt, H., Nazar, R.N. Putative subgroups of *Verticillium albo-atrum* distinguishable by PCR-based assays. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 1993; 43: 423-436.
- Štajner, N., Cregeen, S. in Javornik, B. Evaluation of reference genes for RT-qPCR expression studies in hop (*Humulus lupulus* L.) during infection with vascular pathogen *Verticillium albo-atrum*. *PLoS ONE*. 2013; 8(7): e68228. doi:10.1371/journal.pone.0068228.
- Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology*. 2002; 3.

POPULACIJA AMERIŠKEGA ŠKRŽATKA (*Scaphoideus titanus* Ball) NA OBMOČJU CELJSKE REGIJE

Magda RAK CIZEJ¹¹, Alenka FERLEŽ RUS¹² in Iris ŠKERBOT¹³

Strokovni članek / professional article

Prispelo / received: 28. oktober 2015

Sprejeto / accepted: 7. december 2015

Izvleček

Ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus*) je glavni naravni prenašalec zlate trsne rumenice, bolezninske trte, ki jo povzroča karantenska fitoplazma Grapevine Flavescence dorée (FD). Eden izmed pomembnih ukrepov za uspešno preprečevanje širjenja FD v vinogradih je zatiranje ameriškega škržatka z insekticidi. Omenjen ukrep smo na območju vinorodnega podokoliša Šmarje – Virštanj in ožjega okoliša Slovenske Konjice izvajali od leta 2011 do vključno 2015. Z večletno uporabo insekticidov za zatiranje ameriškega škržatka v vinogradu uspešno znižamo populacijo pod pragom gospodarske škode.

Ključne besede: fitoplazma Grapevine Flavescence dorée / *Scaphoideus titanus* / insekticidi

THE POPULATION OF THE AMERICAN GRAPEVINE LEAFHOPPER (*Scaphoideus titanus* Ball) IN THE CELJE REGION

Abstract

Scaphoideus titanus is natural vector of the quarantine phytoplasma that causes Grapevine Flavescence dorée (FD). The most important measure for successful prevention spread of FD in vineyards is management of *Scaphoideus titanus* with insecticides, which was carried out in Šmarje – Virštanj and Slovenske Konjice winegrowing region from year 2011 to 2015. When we use insecticides for controlling American grapevine leafhopper in vineyards for many years, it effectively reduces its population below the threshold of economic damage.

Key words: phytoplasma Grapevine Flavescence dorée / *Scaphoideus titanus* / insecticides

1 UVOD

Ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus* Ball) je glavni naravni prenašalec karantenske bolezninske trte – zlate trsne rumenice, ki jo povzroča fitoplazma Grapevine flavescence dorée (FD) in je v skladu z Direktivo sveta 2000/29/ES uvrščena na seznam karantenskih škodljivih organizmov (IIAII) (Direktiva sveta, 2015). V Sloveniji je bila FD prvič potrjena leta 2005. Trta je sistemsko okužena z omenjeno fitoplazmo, prav tako pa tudi njen prenašalec - ameriški škržatek. Ameriški škržatek je bil prenesen v Evropo pred približno 100 leti. Predpostavlja se, da je bil v Evropo zanesen iz Amerike s sadilnim materialom, kjer so bila odložena jajčeca

¹¹Dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, e-pošta: magda.rak-cizej@ihps.si

¹²Dipl. inž. agr., prav tam, e-pošta: alenka.ferlez-rus@ihps.si

¹³Mag., Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod Celje, Trnoveljska cesta 1, SI-3000 Celje, e-pošta: iris.skerbot@ce.kgzs.si

ameriškega škržatka. Prvo najdbo ameriškega škržatka v Sloveniji beležimo v letu 1983 in sicer na zahodnem delu Slovenije. V letu 2003 je bil najden v vzhodnem delu Slovenije (Seljak, 2008). Trenutno je prisoten v vseh vinorodnih območjih Slovenije. V Severni Ameriki je ameriški škržatek omejen le na divji vrsti *Vitis* sp., v Evropi pa je ameriški škržatek prisoten na gojeni vinski trti (*Vitis vinifera*) kot tudi na matičnih podlagah vinske trte (Bertin in sod., 2007). Ker lahko širjenje zlate trsne rumenice povzroči pomembno gospodarsko škodo, je zatiranje njenega prenašalca - ameriškega škržatka, eden izmed osnovnih fitosanitarnih ukrepov za preprečevanja širjenja te bolezni. Za uspešno in okolju prijazno uporabo insekticidov zoper ameriškega škržatka je zelo pomembno natančno poznavanje njegove biologije. Podatki o začetku izleganja ličink in dolžini izleganja posameznih razvojnih stadijev ličink so pogoj za napoved optimalnih rokov zatiranja ameriškega škržatka. Chucho in sod. (2009) so ugotovili, da ima izpostavljenost rozg zimskim temperaturam pomembno vlogo na začetek in dolžino izleganja ličink. Ugotovitev, da imajo na začetek in dolžino izleganja ličink ameriškega škržatka poleg temperatur v vegetacijski dobi vinske trte vpliv tudi zimske temperature zraka, smo potrdili tudi v vseh vinorodnih območjih Slovenije (Rak Cizej in sod., 2011).

Ameriški škržatek se šteje za nadzorovan škodljiv organizem, ki ga je potrebno v skladu s Pravilnikom o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranja zlate trsne rumenice (Ur. l. RS, št. 48/14) obvezno zatirati. Najmanj eno zatiranje je obvezno za vse imetnike trte v vinogradih za pridelavo grozdja ter brajdah oziroma ohišnicah kot tudi v matičnjakih in trsnicah na razmejenem območju, ki obsega žarišča okužbe in njihove varovalne pasove na celotnem območju Slovenije.

Ukrep obveznega zatiranja ameriškega škržatka izvajajo tudi v sosednji Avstriji, Švici, Franciji, Italiji in v ostalih evropskih državah. Ameriškega škržatka je potrebno zatirati v skladu z napovedjo službe za varstvo rastlin in **Načrtom ukrepov obvladovanja zlate trsne rumenice (FURS; 2015)**.

Od leta 2013 celotno območje vinorodnega podokoliša Šmarje – Virštanj in ožjega okoliša Slovenske Konjice sodi v razmejeno območje zlate trsne rumenice, kjer je zatiranje ameriškega škržatka nujen ukrep.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Spremljanje odraslih osebkov ameriškega škržatka z rumenimi lepljivimi ploščami

V letih 2011, 2013, 2014 in 2015 smo v vinogradih na območju vinorodnega podokoliša Šmarje – Virštanj in ožjega okoliša Slovenskih Konjic spremljali ameriškega škržatka z rumenimi lepljivimi ploščami proizvajalca Unichem d.o.o., velikosti 240 mm x 180 mm. Plošče smo izobesili na žice med trse, v območje grozdja, v zadnjih dneh meseca junija ali prvih dneh meseca julija. V letu 2011 smo spremljali ameriškega škržatka v 44 vinogradih, v letu 2013 v 13, leta 2014 smo zajeli 37 vinogradov ter leta 2015 13 vinogradov. V posamezen vinograd smo izobesili 3 rumene lepljive plošče, katere smo menjali na 14 dni in jih vizualno pregledali ter ugotavljali čas pojavljanja ameriškega škržatka in njegovo populacijo (številčnost). Ameriškega škržatka smo spremljali do konca oktobra.

2.2 Ugotavljanje izvedenih ukrepov zatiranja ameriškega škržatka v skladu z Načrtom ukrepov preprečevanja širjenja zlate trsne rumenice

Kot eden izmed pomembnih segmentov preprečevanja širjenja FD je uspešno zatiranje ameriškega škržatka. Njegovo populacijo smo preverjali v vinogradih z rumenimi lepljivimi ploščami. Poleg tega nas je zanimalo, kako so vinogradniki upoštevali vsa navodila v skladu z Načrtom ukrepov preprečevanja širjenja zlate trsne rumenice, zato smo jih povprašali/anketirali glede uporabe insekticidov. V anketi smo zabeležili: število opravljenih škropljenj z insekticidi v sezoni, čas njihove uporabe in vrsto insekticida skupaj s hektarskim odmerkom. V letih 2011 do 2013 smo vsako leto anketirali 24 vinogradnikov, 25 vinogradnikov smo anketirali v letu 2014 in 13 v letu 2015.

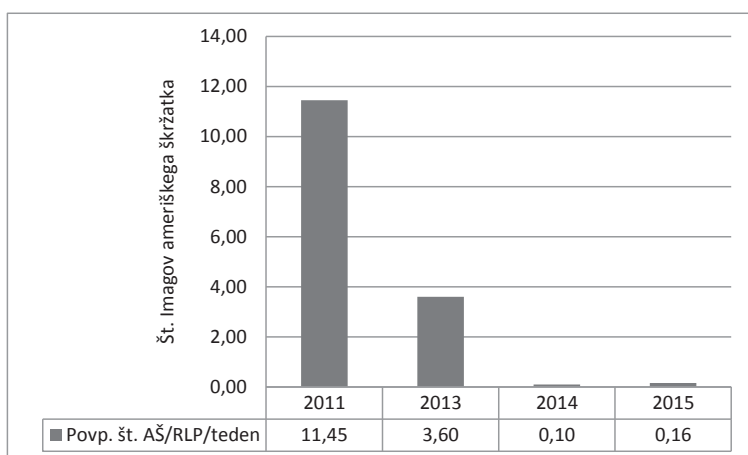
3 REZULTATI IN DISKUSIJA

3.1 Spremljanje odraslih osebkov ameriškega škržatka z rumenimi lepljivimi ploščami

V Sloveniji smo prag škodljivosti ameriškega škržatka povzeli po francoskih smernicah. Prag škodljivosti je presežen, ko ulovimo 4 škržatke na rumeno lepljivo ploščo tedensko. Ta prag predstavlja majhno populacijo, ulovi od 4-15 škržatkov na rumeno lepljivo ploščo tedensko, pomenijo srednje veliko populacijo in ulovi nad 15 škržatkov na rumeno lepljivo ploščo tedensko govorijo o veliki populaciji in prisotnosti ameriškega škržatka v vinogradu. Za uspešno preprečevanje nadaljnega širjenja zlate trsne rumenice moramo strmeti k čim manjši populaciji ameriškega škržatka s ciljem, da škržatek ni več prisoten v vinogradu.

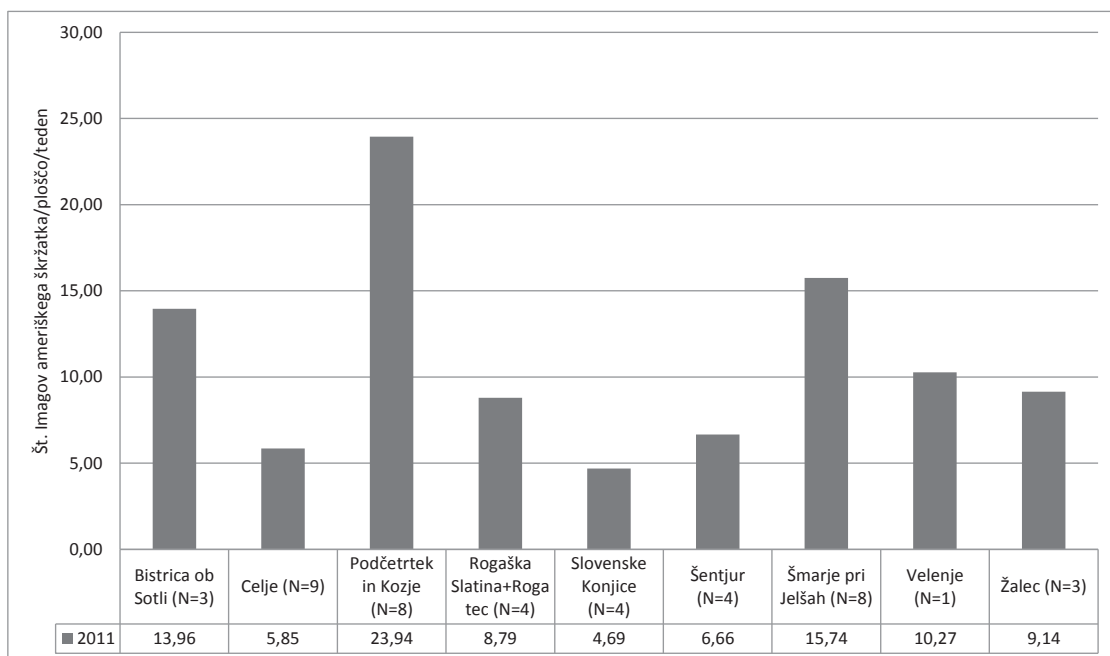
V letu 2011 je bila populacija ameriškega škržatka na širšem območju vinorodnega podokoliša Šmarje – Virštanj in ožjega okoliša Slovenskih Konjic srednje velika, saj se je v povprečju na rumeno lepljivo ploščo v 44 vinogradih ulovilo 11,45 odraslih osebkov ameriškega škržatka na rumeno lepljivo ploščo na teden (slika 1). V letu 2011 še vinogradnikom na omenjenem območju ni bilo potrebno obvezno uporabljati insekticidov za zatiranje ameriškega škržatka.

Populacija ameriškega škržatka je bila različna na različnih lokacijah. Od skupno 44 lokacij, kjer smo z rumenimi lepljivimi ploščami spremljali ameriškega škržatka v letu 2011, na nobeni lokaciji ni bila populacija ameriškega škržatka majhna (< kot 4 ameriški škržatki/rumeno ploščo/teden), temveč je bila na 63,6 % lokacijah, ki so spadale v 7 različnih območjih, populacija ameriškega škržatka srednje velika (ulovljenih 4-15 ameriških škržatkov/rumeno ploščo/teden). Na območju Podčetrka, Kozjega in Šmarja pri Jelšah je bila v povprečju na 16 lokacijah v letu 2011 velika populacija ameriškega škržatka (>15 ameriških škržatkov/rumeno ploščo/teden) (slika 2). Na območju Slovenskih Konjic je bila populacija majhna, saj so v nekaterih vinogradih že uporabljali insekticide za zatiranje ameriškega škržatka.



Slika 1: Povprečno število imagov ameriškega škržatka (AŠ) (*Scaphoideus titanus*) po letih na rumeni lepljivi plošči (RPL) na teden na območju Šmarsko – Virštanjskega vinorodnega okoliša in ožjega okoliša Slovenske Konjice

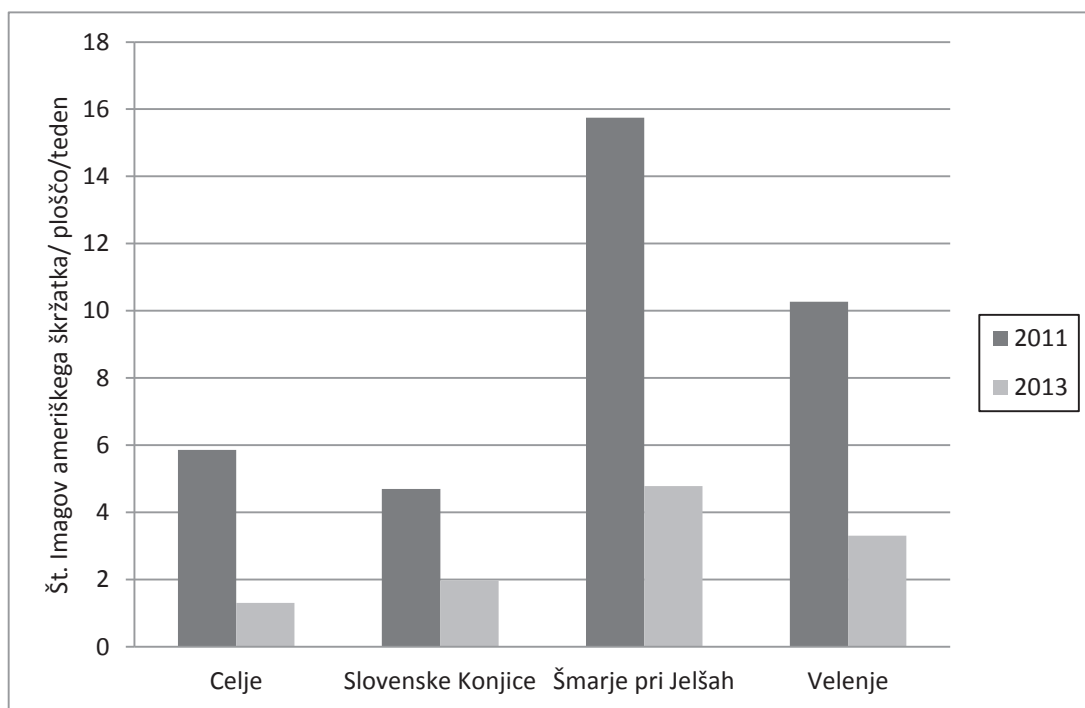
Figure 1: Average no. of adult American grapevine leafhopper (*Scaphoideus titanus*) on yellow sticky trap per week during different years in Šmarsko-Virštanj and Slovenske Konjice winegrowing regions.



Slika 2: Povprečno število imagov ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*) na različnih lokacijah na rumeni lepljivi plošči na teden na območju Šmarsko – Virštanjskega vinorodnega okoliša in ožjega okoliša Slovenskih Konjic v letu 2011

Figure 2: Average no. of adult American grapevine leafhopper (*Scaphoideus titanus*) on yellow sticky trap per week on different locations in Šmarsko-Virštanj and Slovenske Konjice winegrowing regions in year 2011

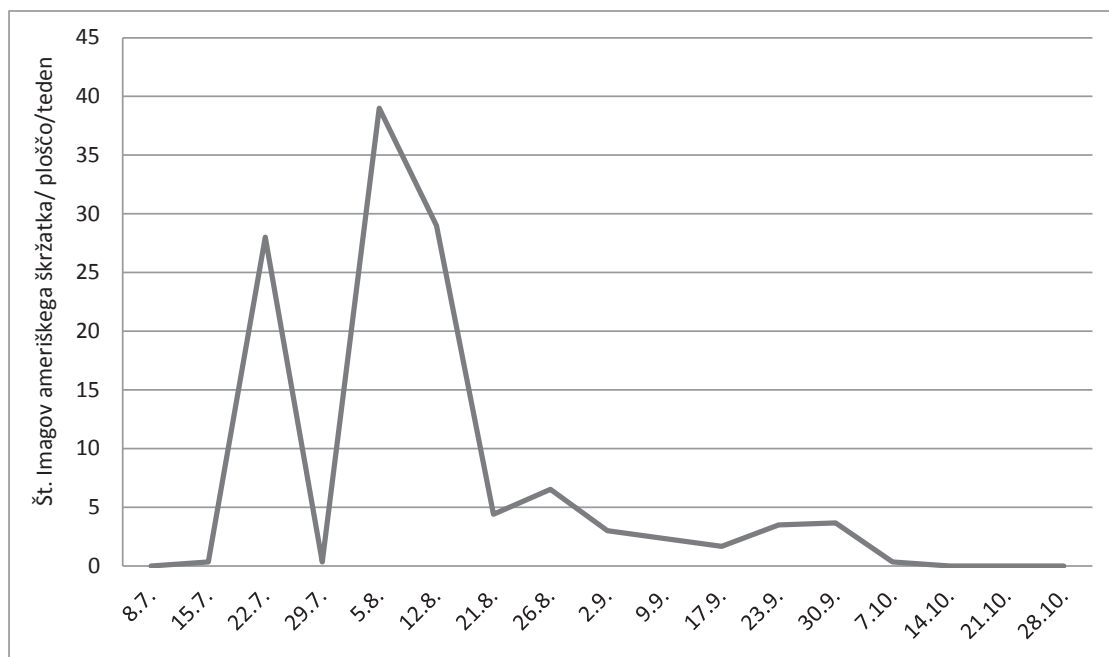
V letu 2013 se je populacija ameriškega škržatka v primerjavi z letom 2011 v povprečju zmanjšala za faktor 3,18 (slika 1), kar je bila posledica dosledne uporabe insekticidov v letu 2013, katere so vinogradniki uporabljali v skladu z **Načrtom ukrepov obvladovanja zlate trsne rumenice in upoštevanjem** strokovnih navodil. Na večini območij populacija ameriškega škržatka v letu 2013 ni presegla 4 imagov/ploščo/teden (slika 3), v splošnem so imeli majhno populacijo ameriškega škržatka.



Slika 3: Primerjava povprečnega števila imagov ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*) na različnih lokacijah na rumeni lepljivi plošči na teden na območju Šmarsko – Virštanjskega vinorodnega okoliša in ožjega okoliša Slovenske Konjice v letih 2011 in 2013

Slika 3: Comparison of average no. of adult American grapevine leafhopper (*Scaphoideus titanus*) on yellow sticky trap per week on different locations in Šmarsko-Virštanj and Slovenske Konjice winegrowing regions in years 2011 and 2013

Seveda je potrebno preveriti dinamiko populacije ameriškega škržatka tekom leta. Na lokaciji Vrenska Gorca - Kozje smo v letu 2013 imeli v povprečju 4,8 imagov ameriškega škržatka/rumeno ploščo/teden. Ob natančnem pregledu vidimo, da je bila populacija škržatka v juliju in vse do septembra velika, zato je bilo na tej lokaciji potrebno uporabiti insekticid 2-krat (slika 4). Vinogradov s podobno veliko populacijo ameriškega škržatka je bilo zelo malo. V letu 2013 je bila populacija ameriškega škržatka ves čas spremljanja v večini vinogradov na širšem območju Šmarsko – Virštanjskega vinorodnega okoliša pod pragom gospodarske škode. Izvajanje ukrepa obvezne uporabe insekticidov v vinogradih se je nadaljevalo tudi v letih 2014 in 2015, kar ima za posledico bistveno zmanjšanje populacije ameriškega škržatka, saj v nekaterih vinogradih nismo našli ameriškega škržatka oziroma je bil ulov zanemarljiv (preglednica 2).



Slika 4: Dinamika ulova imagov ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*) na rumeni lepljivi plošči na teden, Vrenska Gorca - Kozje, 2013

Figure 4: Dynamics of adult American grapevine leafhopper (*Scaphoideus titanus*) population on yellow sticky trap per week on locations Vrenska Gorca and Kozje in year 2013

3.2 Ugotavljanje izvedenih ukrepov zatiranja ameriškega škržatka v skladu z Načrtom ukrepov preprečevanja širjenja zlate trsne rumenice

V štirih letih (2011, 2013, 2014, 2015) smo vinogradnike povprašali glede uporabe insekticidov za zatiranje ameriškega škržatka v njihovih vinogradih. V letu 2011 so anketirani vinogradniki uporabljali insekticide v 45,8 % vinogradov, še vedno je bila več kot polovica vinogradov, kjer insekticidov niso uporabljali. V večini primerov (81,8 %) so vinogradniki uporabljali insekticide le 1-krat letno. Prednost so dali kontaktnim insekticidom s kratko dobo delovanja. Čas uporabe insekticidov je bil usmerjen v začetek julija, ko je bila s strani opazovalno - napovedovalne službe podana napoved za zatiranje ličink (preglednica 1). V letu 2012 se je delež vinogradov na Šmarsko-Virštanjskem vinorodnem območju in ožjem okolišu Slovenskih Konjic, kjer so vinogradniki uporabljali insekticid, zmanjšal na 37,5 %. Še vedno več kot polovica vinogradnikov insekticidov ni uporabljala, saj ukrep ni bil obvezen. V vinogradih, kjer so uporabili insekticid, je bil v 77,8 % insekticid uporabljen 1-krat letno. Uporaba sistemskih insekticidov se je v letu 2012 povečala na 44,4 %. Leto 2013 je bilo prelomno, saj je bilo v skladu z razmejitvijo zlate trsne rumenice potrebno obvezno uporabiti insekticid za zatiranje ameriškega škržatka 2-krat letno. Od 24 anketiranih vinogradnikov tega ukrepa niso izvedli le štirje vinogradniki (preglednica 1). Še vedno je prevladovala 1 aplikacija letno in sicer v 65 % vinogradih, povečal pa se je delež uporabe insekticidov 2-krat letno na 30 %, v enem vinogradu so insekticid za zatiranje ameriškega škržatka uporabili 3-krat (preglednica 1). V letu 2013 je še vedno prevladovala uporaba kontaktnih insekticidov, in

sicer so jih uporabili kar v 60 % vinogradov. Slabost kontaktnih insekticidov je, da hitro izhlapijo, imajo kratek čas delovanja in imajo večji negativen vpliv na koristne organizme.

V letu 2014 pa so vinogradniki že osvojili vse predpisane ukrepe do te mere, da so v 96 % vinogradov, ki so bili zajeti v analizo, uporabili insekticid, zato se je delež 2-kratne aplikacije na leto povečal na 66,7 %. Prav tako se je v tem letu spremenilo razmerje uporabe insekticidov v prid uporabe sistemskih insekticidov in se izrazilo v 66,7 % deležu. V letu 2015 se je spremenil načrt ukrepov za obvladovanje zlate trsne rumenice in posledično načrt zatiranja ameriškega škržatka, in sicer v smeri zmanjšanja uporabe insekticidov. Obvezna je ena aplikacija letno, če z njo zadržimo populacijo ameriškega škržatka pod pragom 4 škržatkov/rumeno ploščo/teden, druga aplikacija insekticidov ni potrebna. Tako smo v letu 2015 pri vseh 13 vinogradnikih zabeležili uporabo insekticidov, kjer so v 61,5 % izvedli eno aplikacijo letno, še vedno pa je 38,5 % vinogradnikov uporabilo insekticide 2-krat. Druga aplikacija je bila usmerjena na zatiranje grozdnih sukačev, ki pa ima tudi stransko delovanje na ameriškega škržatka. Delež uporabe sistemskih insekticidov se je v primerjavi s predhodnim letom še malenkostno povečal in dosegel skoraj 70 % delež (preglednica 1).

Preglednica 1: Analiza uporabe insekticidov za zatiranje ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*) v vinogradih na Šmarsko-Virštanjem vinorodnem okolišu in ožjem okolišu Slovenskih Konjic v letih 2011 do 2015

Table 1: Analysis of used insecticides for controlling American grapevine leafhopper (*Scaphoideus titanus*) in vineyards in Šmarsko-Virštanj and Slovenske Konjice regions in years 2011 to 2015

Leto	Št. vinogradov						
	Brez uporabe insekticidov	Z uporabo insekticidov	Uporaba insekticidov letno			Vrsta insekticida	
			1-krat	2-krat	3-krat	sistemski	kontaktni
2011 (N=24)	13 (54,2 %)	11 (45,8 %)	9 (81,8 %)	2 (18,2 %)	0 (0,0 %)	1 (9,1 %)	10 (90,9 %)
2012 (N=24)	15 (62,5 %)	9 (37,5 %)	7 (77,8 %)	2 (22,2 %)	0 (0,0 %)	4 (44,4 %)	5 (55,6 %)
2013 (N=24)	4 (16,7 %)	20 (83,3 %)	13 (65,0 %)	6 (30,0 %)	1 (5,0 %)	8 (40,0 %)	12 (60,0 %)
2014 (N=25)	1 (4,0 %)	24 (96,0 %)	8 (33,3 %)	16 (66,7 %)	0 (0,0 %)	16 (66,7 %)	8 (33,3 %)
2015 (N=13)	0 (0,0 %)	13 (100,0 %)	8 (61,5 %)	5 (38,5 %)	0 (0,0 %)	9 (69,2 %)	4 (30,8 %)

Ob vseh zbranih podatkih uporabe insekticidov in v povezavi s populacijo ameriškega škržatka lahko v preglednici 2 vidimo, da so vinogradniki ob upoštevanju vseh strokovnih navodil in upoštevanja Načrta ukrepov dosegli zelo nizko populacijo ameriškega škržatka. Tako je bilo v letu 2011 v 12 vinogradih povprečno število ameriških škržatkov 18,7/rumeno ploščo/teden (preglednica 2). Za leto 2012 nimamo podatka o populaciji ameriškega škržatka, ker ga nismo spremljali. V letu 2013 je populacija ameriškega škržatka predvsem zaradi uporabe insekticidov padla v povprečju na 3,1 odraslega škržatka/rumeno ploščo/teden. V letih 2014 in 2015 pa je bila populacija v 11 vinogradih v sledovih, v povprečju 0,1 škržatek/rumeno ploščo/teden, razen v enem vinogradu, kjer je bila v letu 2015 populacija izredno velika, 12,43 škržatkov/ploščo/teden, kljub uporabi sistemnega insekticida. Glede na

delovanje sistemičnega insekticida in rezultate po uporabi le-tega v drugih vinogradih dvomimo o uporabi le tega v konkretnem vinogradu.

Preglednica 2: *Populacija ameriškega škržatka (Scaphoideus titanus) in uporaba insekticidov na 12 vinogradih na Šmarsko-Virštanjskem vinorodnem okolišu in ožjem okolišu Slovenskih Konjic v letih 2011 do 2015*

Table 2: *Population of American grapevine leafhopper (Scaphoideus titanus) and used insecticides in 12 vineyards in Šmarsko-Virštanj and Slovenjske Konjice regions in years 2011 to 2015*

Vinograd	2011		2012	2013		2014		2015	
	Povp. št. AŠ/RLP/ teden	Uporaba in št. aplikacij insekticidov	Uporaba in št. aplikacij insekticidov	Povp. št. AŠ/RLP/ teden	Uporaba in št. aplikacij insekticidov	Povp. št. AŠ/RLP/ teden	Uporaba in št. aplikacij insekticidov	Povp. št. AŠ/RLP/ teden	Uporaba in št. aplikacij insekticidov
1	120,60	da-1x	ne	6,50	da-1x	0,03	da-2x	0,05	da-2x
2	33,86	ne	ne	6,06	da-1x	0,02	da-2x	0,02	da-1x
3	7,86	da-1x	da-1x	0,61	da-1x	0,02	da-2x	0,07	da-2x
4	1,49	da-1x	ne	1,45	da-1x	0,01	da-1x	0,04	da-1x
5	1,43	ne	da-2x	1,30	da-2x	0,02	da-2x	0,01	da-1x
6	2,53	da-2x	da-2x	0,26	da-2x	0,00	da-2x	0,01	da-1x
7	9,20	da-1x	ne	7,58	ne	0,27	da-2x	0,58	da-1x
8	10,27	ne	ne	6,00	ne	0,78	da-2x	12,43*	da-1x
9	13,74	ne	da-1x	2,70	da-1x	0,20	da-2x	0,11	da-2x
10	13,59	da-1x	da-1x	1,76	da-2x	0,00	da-2x	0,01	da-2x
11	1,73	da-1x	da-1x	0,34	da-2x	0,02	da-2x	0,02	da-2x
12	7,51	ne	ne	2,64	da-1x	0,01	da-2x	0,04	da-1x
Povp. št. AŠ	18,7			3,1		0,1		0,1**	

* Vinogradnik uporabil sistemičen insekticid, katerega mu je spral dež nemudoma po aplikaciji.

** Iz povprečja izločen vinograd št. 8.

AŠ-ameriški škržatek

RLP - rumena lepljiva plošča

4 ZAKLJUČEK

Glede na rezultate spremljanj ameriškega škržatka na območju vinorodnega podokoliša Šmarje – Virštanj in ožjega okoliša Slovenske Konjice z rumenimi lepljivimi ploščami lahko zaključimo, da v vinogradih, kjer so prvo aplikacijo proti ameriškemu škržatku opravili v napovedanem roku s sistematičnem insekticidom, populacija odraslih ameriških škržatkov ni presegla praga škodljivosti, kar je potrditev pravilnosti spremembe Načrta ukrepov v letu 2015, kjer je zmanjšana obvezna uporaba insekticidov iz 2-krat na 1-krat letno ob predpostavki, da se populacija spremlja z rumenimi lepljivimi ploščami.

5 VIRI

- Chuche J., Thiéry D., 2009. Cold winter temperatures condition the egg-hatching dynamics of a grape disease vector. *Naturwissenschaften*, Volume 96, Number 7, 827-834.
- Seljak G., 2008. Distribution of *Scaphoideus titanus* in Slovenia: its new significance after the first occurrence of grapevine "flavescence dorée". *Bulletin of Insectology* 61 (1): 201-202.
- Bertin S., Guglielmino R.C., Karam N., Gomulski L.m., Malacrida A.R., Gasperi G., 2007. Diffusion of the Nearctic leafhopper *Scaphoideus titanus* Ball in Europe: a consequence of human trading activity. *Genetica* 131,3, 275-285.
- Rak Cizej M., Ferlež Rus A., Persolja J., Radišek S. Preučevanje bionomije ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus* Ball). *Zbornik predavanj in referatov 10. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin v Podčetrtku od 1. do 2. marca 2011*. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2011, 133-138.
- Pravilnik o ukrepih za preprečevanje širjenja in zatiranja zlate trsne rumenice (Ur. l. RS, št. 48/2014).
- Direktiva sveta 200/29/ES; <http://www.furs.si/law/EU/zvr/svn/32000L0029/32000L0029-SI.pdf> (10. 10. 2015).
- Uredbe o izvedenih ukrepih za preprečevanje širjenja zlate trsne rumenice in zatiranje ameriškega škržatka *Scaphoideus titanus* Ball (Uradni list RS, št. 40/11); <http://pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=URED5693> (10. 10. 2015).
- Načrt ukrepov obvladovanja zlate trsne rumenice. Dostopno na: http://www.furs.si/svn/zvr/POSNadzori/Rumenice/RumenicePosObv/Nacrt_ukrepov_sprejet_za_spl et.pdf (10. 10. 2015).

pH TAL IN PRIDELEK HMELJA (*Humulus lupulus*) GLEDE NA ODMEREK APNENIH GNOJIL

Barbara ČEH¹⁴ in Bojan ČREMOŽNIK¹⁵

Izvirni znanstveni članek / original scientific article

Prispelo / received: 28. september 2015

Sprejeto / accepted: 20. november 2015

Izveček

pH tal je pomemben dejavnik, ki ima velik vpliv na rast in razvoj rastlin, med drugim tudi zaradi velikega vpliva na dostopnost hranil. Z bločnim poljskim poskusom, ki smo ga postavili spomladi leta 2012 (pH tal (v KCl) =5,8;), smo želeli preveriti, ali je učinkovito, če določimo odmerek apnenca (triasnega in miocenskega; 2,3 t/ha) oziroma hidratiziranega apna (1,3 t/ha) na podlagi preglednic po Schachtschablu. Za primerjavo smo vključili v preučevanje učinkovitosti pripravkov na osnovi skeleta litotamnijskih alg (0,3 t/ha). Odmerki vseh pripravkov so bili očitno premajhni in zato neučinkoviti; pH se je pri vseh obravnavanjih nižal in je do novembra 2013 padel na 5,3 do 5,4. Zato smo v nadaljevanju želeli preveriti, ali je bolj primerno svetovanje odmerkov apnenih gnojil po preglednicah združenja nemških kmetijskih analitskih in raziskovalnih inštitutov (VDLUFA). Na ta način določen odmerek apnenca (19 t/ha) je precej povečal pH tal že v enem letu, le-ta pa se je v sledečih letih še povečeval. Pri obravnavanju s triasnim apnencem (granulacije 0-1 mm) je bil pH tal jeseni 2015 že relativno visok (pH=7,2). Pri obravnavanju z miocenskim apnencem (granulacije 0-8 mm), je bil pH tal jeseni 2015 6,9. Po preglednici VDLUFA določen odmerek hidratiziranega apna se zaenkrat kaže kot previsok za naše preučevane razmere; potrosili smo le en obrok (okrog četrtno celotnega svetovanega odmerka), pa je pH tal jeseni 2015 že 6,6. Vsakoletni jesenski odmerek 0,3 t/ha priprava iz skeleta morskih alg je bil (doslej) premajhen, da bi značilno vplival na pH tal. Apnjenje je ne glede na pripravek v letu 2015 značilno pozitivno vplivalo na pridelek hmelja.

Ključne besede: apnjenje / kalcifikacija / hmelj / *Humulus lupulus* / pH tal / rodovitnost tal / pridelek

SOIL pH AND HOP (*Humulus lupulus*) YIELD RELATED TO LIMING MATERIAL RATE

Abstract

Soil pH is an important factor that has a big impact on plant growth and development, because its high effect on nutrient availability. With field experiment in a block design, which was set up in spring 2012 (initial soil pH (in KCl) was 5.8), we wanted to examine whether it is efficient to determine the dose of limestone (Triassic and Miocene; 2.3 t/ha) and hydrated lime (1.3 t/ha) according to the tables after Schachtschabel. For comparison, we included the study of the effectiveness of the product based on the skeleton of litotamniium algae (0.3 t/ha). Doses of products were obviously too small and thus inefficient; the pH at all treatments decreased until November 2013 to 5.3 or 5.4. Therefore, we wanted to examine whether to advise doses of liming material according to tables after Association of German Agricultural Analytical and Research Institutes (VDLUFA). A higher dose of both types of limestone (19 t/ha) significantly increased soil pH within a year, and in subsequent years it continued to increase. In autumn of 2015 at the treatment with Triassic limestone (granulation 0-1 mm) soil pH was already relatively high (pH=7.2), at the treatment with Miocene limestone it was 6.9. Dose of hydrated lime,

¹⁴ Dr., univ. dipl. inž. agr., IHPS, e-naslov: barbara.keh@ihps.si

¹⁵ Dipl. inž. agr. in hort., prav tam, e-pošta: bojan.cremoznik@ihps.si

determined according to the VDLUFA tables, seems too high for our studied situation; we applied a quarter of the advised dose and soil pH was already 6.6 in autumn of 2015. Annual rate of 0.3 t/ha of seaweed product was obviously too low to significantly affect the pH of the soil, but in 2015 it had positive impact on hop yield. In 2015 liming reflected in significantly higher yield of hop.

Key words: liming / calcification / hop / *Humulus lupulus* / soil pH / soil fertility / yield

1 UVOD

Hmeljarji uporabljajo v namen povečevanja oziroma vzdrževanja pH tal različna apnena gnojila, ki so cenovno različno dostopna, zato se v praksi postavlja vprašanje, katera so smiselna in kakšni odmerki so sploh učinkoviti.

pH tal je pomemben dejavnik, ki ima velik vpliv na rast in razvoj rastlin, med drugim tudi zaradi velikega vpliva na dostopnost hranil. Prenizek pH tal namreč povzroči zmanjšanje dostopnosti predvsem fosforja, kalija in dušika za rastline. Pravilna agrotehnika, s katero uravnavamo ta parameter, je temeljni ukrep upravljanja z rodovitnostjo tal (Haynes in Naidu, 1998), saj večina posevkov, ki jih pridelujemo, ni prilagojena na kislila tla (Brady in Weil, 1996). Če je pH tal prenizek, apnjenje na dolgi rok poveča pridelek in pozitivno vpliva na strukturo tal (Davies in Payne, 1988; Haynes in Naidu, 1998), zmanjša se nasičenost tal z aluminijem in njegova toksičnost, poveča se razpoložljivost hranil, blaži se pomanjkanje kalcija (Haynes and Naidu, 1998; Osman, 2013). Učinek apnjenja na vsebnost ogljika v tleh je različen: i) poveča se biološka aktivnost tal, s čimer se spodbuja mineralizacija organske snovi, kar naj bi imelo za posledico zmanjšanja zaloga ogljika v tleh, vendar pa ii) pozitivno deluje na strukturo tal oziroma tvorjenje strukturnih agregatov, kar naj bi doprineslo k zvišanju vsebnosti ogljika v tleh, ter iii) izboljšuje razmere v tleh za rast rastlin - deluje pozitivno na povečanje produktivnosti rastlin in s tem na večji vnos organske mase v tla (Paradelo, 2015).

Če ne apnimo pride v naših razmerah do zakisanja tal že po naravni poti, saj z rastlinskimi pridelki odvezamo iz tal (tudi) poglavitna bazična kationa kalcij in magnezij, baze se iz tal tudi izpirajo, v tleh se z različnimi procesi sproščajo kisline, večina gnojil, ki jih pri nas uporabljamo, deluje kislo, tudi 'čisti' dež je rahlo kisel (Mihelič, 2012; Goulding, 2015). V dolgoletnih poljskih poskusih so ugotovili, da za sprotno nevtralizacijo v tleh nastajajočih kislil, če gnojimo s kislilo delujočimi gnojili, potrebujemo letno 1 t/ha apnenca (CaCO_3) (Mihelič, 2012; Goulding, 2015). Odmerke apnenih gnojil določimo na osnovi izmerjenega pH tal, tipa tal ter vsebnosti humusa ob upoštevanju vrste in oblike materiala, vsebnosti CaO in njegovega apnilnega učinka (Mihelič in sod., 2010).

Mladi kalcitni mehki apnenec so za apnjenje tal po mnenju Strokovne skupine za prilagajanje podnebnim spremembam najbolj primerni, ker so dobro topni, sorazmerno hitro preperevajo ter imajo trojno naravo delovanja: 25 % do 50 % deluje že v prvem letu, ostanek se v tleh sprošča postopno (v naslednjih 4 do 6 letih) (Flisar Novak, 2014). Prednost apnenca je, da tudi pri večjih odmerkih ne deluje agresivno na talne organizme. Pri apnencu sta pomembna dva podatka: velikost delcev in narava (izvor) kamnine apnenca. Načeloma velja, da je delovanje hitrejše, bolj ko so delci drobni. Vendar je pomembna tudi narava apnenca - mladi, mehki apnenec so bolj topni ter sorazmerno hitro preperevajo (Mihelič in sod., 2010; Comission, 2013).

Kalcij in magnezij lahko v tla dodajamo tudi z drugimi materiali. Pripravek na osnovi skeleta litotamnijskih alg - *Lithothamnium calcareum* (rdeče apnenčaste alge, ki živijo na morskem dnu in so v 95 % sestavljene iz mineralnih snovi) vsebuje veliko kalcija, njegova glavna komponenta je magnezij, sicer pa vsebuje še več kot 60 elementov (Lithothamnium, 2015; Apnenenc, 2015). V tleh se v stiku s huminskimi kislinami veže in spremeni v kalcijev humat, ki v vodi ni topen, a je dostopen za rastline. Z dodatkom rastlinskih izvlečkov pozitivno vpliva na sproščanje makro in mikro hranil v tleh in nemoten prenos le-teh v rastline, veže dušične kisline v kalcijev nitrat, s čimer je večji izkoristek dušika. Apnenec iz morskih alg se sprošča počasneje, naj pa bi zelo pozitivno vplival na strukturo tal (Apnenenc, 2015).

S poljskim poskusom, ki smo ga postavili spomladi leta 2012, smo želeli preveriti, ali je v praksi učinkovito, če določimo odmerek apnenca (triasnega in miocenskega) oziroma hidratiziranega apna na podlagi preglednic po Schachtschablu, ki se uporabljajo v Sloveniji za določevanje odmerka teh dveh vrst apnenih gnojil. Za primerjavo smo vključili v preučevanje pripravek na osnovi skeleta litotamnijskih alg v odmerku, ki ga priporoča proizvajalec.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Tla

Poskus je postavljen na poskusnem posestvu Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. Tla so srednje globoka, evtrična rjava na peščeno prodnati osnovi. Zgornji obdelovalni horizont uvrščamo v teksturni razred glinasta ilovica - peščeno glinasta ilovica (GI-PGI), kar uvršča tla med težka do srednje težka. V globljih horizontih se pojavlja večji delež peska. Pred postavitvijo poskusa spomladi 2012 je bil zgornji sloj tal 25 cm dobro preskrbljen s kalijem (24,6 mg K₂O/100 g tal) in ekstremno s fosforjem (43,9 mg P₂O₅/100 g tal) (AL-metoda; Egner in sod., 1960), pH tal (v KCl) je bil 5,8, vsebnost organske snovi 2,3 %. Glede na teksturo tal naj bi bilo po smernicah VDLUFA ustrezno pH območje od 6,9 do 7,5 (VDLUFA, 2000). Za hmelj so primerna zmerno kislila tla s pH od 6,0 do 6,7 (Čeh, 2012).

2.2 Postavitev in oskrba poskusov

Marca 2012 smo potrosili različna apnena gnojila v odmerkih, določenih glede na izhodiščni pH tal 5,8 po preglednicah po Schachtschablu, in jih zadelali v tla v medvrstnem prostoru s hmeljarskim kultivatorjem do globine 20 cm. Poskus, ki še vedno poteka, je zastavljen kot bločni poljski poskus s petimi obravnavanji v štirih ponovitvah. Velikost osnovne parcele je okrog 76 m².

Obravnavanja:

- **'kalcijev karbonat - trdi'**: 2,3 t/ha geološko starejšega apnenca iz triasa (86,7 % CaCO₃ oziroma preračunano 48,6 % CaO; 6,3 % MgCO₃ (Ecobeton, 2013); nevtralizacijska vrednost 90 %, reaktivnost v primerjavi s čistim apnencem 41 %; velikost delcev: 0-1 mm);
- **'kalcijev karbonat - mehki'**: 2,3 t/ha geološko mlajšega apnenca iz miocena (> 92 % CaCO₃ oziroma preračunano > 52 % CaO; 2,5 do 4,0 % MgCO₃; nevtralizacijska vrednost 91 %, reaktivnost v primerjavi s čistim apnencem 79 %; velikost delcev: 41 % 0-1 mm, 22 % 1-2 mm, 23 % 2-5 mm in 14 % 5-8 mm; Apnenec IGM, 2012);

- **'hidratizirano apno'**: 1,3 t/ha Ca(OH)₂ (70 % CaO, nevtralizacijska vrednost 132 % v primerjavi s čistim apnenecem);
- **'morske alge'**: 0,3 t/ha proizvoda iz morskih kalcitnih alg - *Lithothamnium calcareum* (80 % CaCO₃, 11 % MgCO₃ + alginati in elementi v sledovih: železo, baker, mangan, cink, molibden, kobalt, jod, bor, selen; nevtralizacijska vrednost 50 %, reaktivnost v primerjavi s čistim apnenecem 16 %, oblika prašiva; Apnenenc ..., 2015);
- **'kontrola - brez apnjenja'**.

Ker smo v jeseni 2013 izmerili v tleh pH glede na obravnavanje med 5,3 in 5,4 (poglavje 3.1 Rezultati z diskusijo), smo parcele novembra 2013 ponovno apnili z istimi pripravki. Odmerek *kalcijevega karbonata – trdi* in *kalcijevega karbonata – mehki* smo povečali, in sicer smo ju določili na podlagi preglednic po VDLUFA - Združenje nemških kmetijskih analitskih in raziskovalnih inštitutov (2000) glede na izhodiščni pH=5,3 (19 t/ha; preglednica 1). Želeli smo torej preveriti, ali naj bi svetovali odmerke po nemških preglednicah tudi v naših razmerah. Po preračunu po teh preglednicah bi morali aplicirati 9,25 t/ha hidratiziranega apna (Ca(OH)₂) (razdeljeno na več obrokov, saj je sicer to sredstvo preveč agresivno za življenje v tleh); tako smo jeseni 2013 potrosili prvi obrok 2,5 t/ha. Pripravek iz *morskih alg* smo v tem času začeli aplicirati vsako jesen v istem odmerku 0,3 t/ha (preglednica 1). Vse pripravke smo zadelali v tla s kultiviranjem.

Preglednica 1: *Termini aplikacije in odmerki (t/ha) posameznih apnenih gnojil v poskusu od 2012 do 2015; v oklepaju količina apliciranega CaO*

Table 1: *Dates of application time and amounts (t/ha) of different liming products in the experiment from 2012 to 2015; in brackets amount of applied CaO*

	Marec 2012	November 2013	November 2014	November 2015
kalcijev karbonat - trdi (t/ha)	2,3 (1,2)	19 (9,5)	-	-
kalcijev karbonat - mehki (t/ha)	2,3 (1,2)	19 (9,9)	-	-
hidratizirano apno (t/ha)	1,3 (0,9)	2,5 (1,8)	-	-
morske alge (t/ha)	0,3 (0,14)	0,3 (0,14)	0,3 (0,14)	0,3 (0,14)
kontrola - brez apnjenja (t/ha)	-	-	-	-

Poskus je ves čas oskrbovan po načelih dobre kmetijske prakse enako za vsa obravnavanja. Gnojenje s fosforjem in kalijem je opravljeno spomladi glede na analizo tal, in sicer s kalijevim kloridom (60 %) v količini 200 kg/ha in NPK-6-12-24 v količini 100 kg/ha oziroma v nekaterih letih samo s kalijevim kloridom (60 %) v količini 300 kg/ha. Dognojevanje z dušikom poteka v treh obrokih na termine okrog 10. maja, 15. junija in 5. julija v količini 50+70+50 kg/ha N. Prvi dve dognojevanji sta običajno opravljena s KANom in tretje z ureo, v nekaterih letih pa vsa tri dognojevanja s KANom. S hlevskim gnojem smo pognojili jeseni 2010 v količini 25 t/ha, celotna površina se je nazadnje (pred postavitvijo poskusa) enako apnila jeseni 2009 s *kalcijevim karbonatom - trdi* v količini 3 t/ha. Hmeljišče ni namakano.

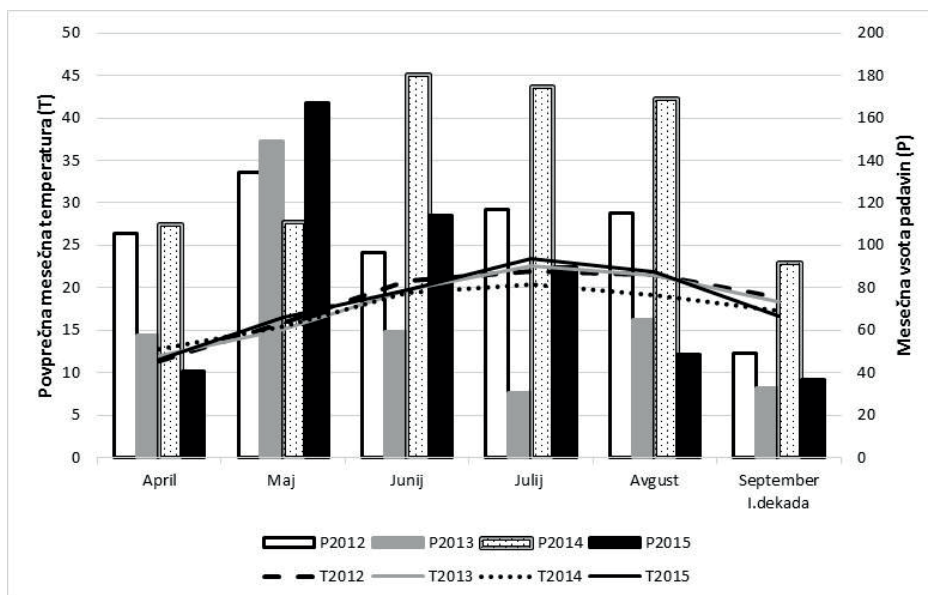
2.3 Hmelj, sorta Celeia

Sorta Celeia je triploidna aromatična sorta hmelja, poznana po fini hmeljni aromi ter prijetni in harmonični grenčici, požlahtnjena na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije,

potomka Savinjskega goldinga ter slovenskega moškega hmelja (IHPS, 2012). Zasajena je na 35 % slovenskih hmeljišč.

2.4 Vremenske razmere v letih 2012 do 2015

Obdobje suše je bilo v letu 2012 le v zadnji dekadi pred obiranjem, v letu 2013 pa že v juniju in je trajalo vse do obiranja. V letu 2015 je bila suša v avgustu in je ponovno trajala do obiranja. Leto 2014 je bilo izrazito deževno (slika 1).



Slika 1: WALTER-GAUSSENov klimadiagram za rastne sezone v letih od 2012 do 2015 (Žalec); P = vsota mesečnih padavin, T = povprečna mesečna temperatura
Figure 1: WALTER-GAUSSEN diagram for hop growth period in years 2012 to 2015 (Žalec); P = precipitation, T = average temperature

2.5 Meritve

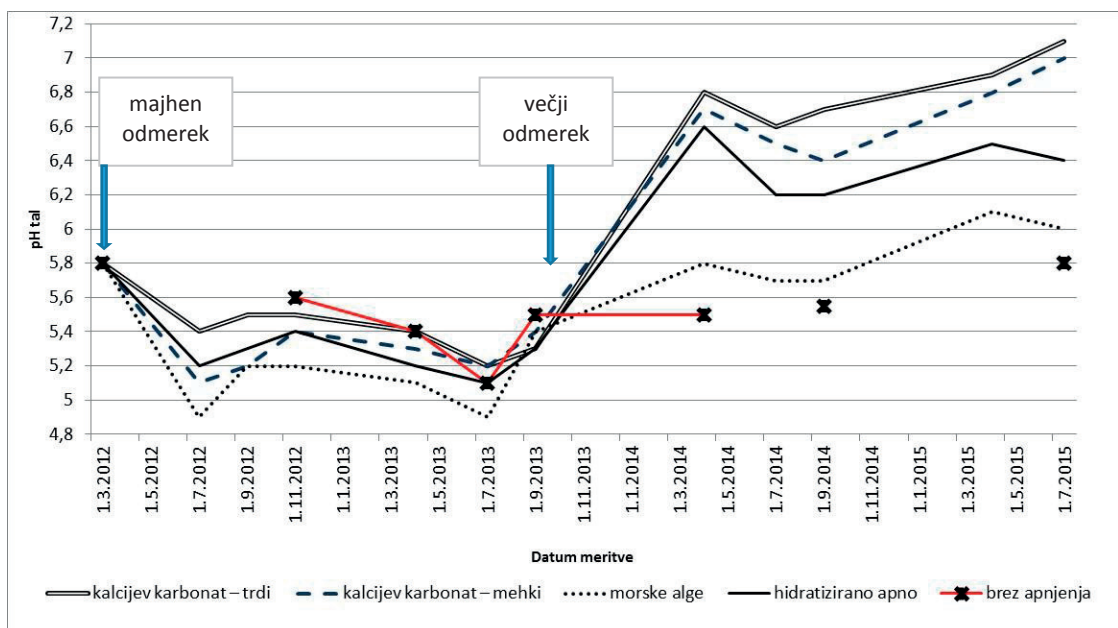
Vsako leto smo vzorčili tla do globine 25 cm v aprilu (v začetku rastne dobe hmelja), v prvi dekadi julija (tik pred tretjim dognojevanjem hmelja z dušikom) ter v zadnji dekadi septembra (po obiranju hmelja) in jih analizirali na pH (v KCl). Posamezen vzorec smo vzeli tako, da smo se po parceli pomikali cik-cak ter vzeli podvzorce na dvajsetih do petindvajsetih mestih. Vzorčili smo v medvrstnem in vrstnem prostoru, pri tem smo se izogibali robovom parcel. Enkrat letno smo vzorce vzeli po parcelicah, kar dopušča statistično analizo rezultatov, dvakrat letno pa po obravnavanjih.

V času tehnološke zrelosti smo vrednotili pridelek notranjih vrst hmelja. Posebej za vsako parcelo smo stehali pridelek storžkov, takoj vzeli vzorce za analizo na vsebnost vlage (Analytica EBC 7.2. /1998/). Rezultate smo obdelali s pomočjo računalniških paketov Excel in Statgraphics Centurion. Razlike med obravnavanji smo zaznavali z Duncanovim testom mnogoterih primerjav, $p=0,05$.

3 REZULTATI Z DISKUSIJO

3.1 pH tal

Z meritvami pH tal zgornjega sloja 25 cm smo do jeseni 2013 ugotovili, da so bili aplicirani odmerki vseh vključenih pripravkov očitno premajhni in zato neučinkoviti, da bi vplivali na dvig pH tal (Čeh, 2014; Čeh in Čremožnik, 2015). Počasi, a vztrajno, se je pH tal zmanjševal pri vseh vključenih obravnavanjih, ne glede na to, če smo apnili ali ne oziroma ne glede na vrsto pripravka za apnjenje (slika 2). Po dobrem letu in pol od apnjenja (jeseni 2013) je bil pH tal celo nižji kot pri postavitvi poskusa (od 5,3 do 5,4 glede na obravnavanje), dokazljivih razlik med obravnavanji ni bilo. Glede na to smo se odločili, da jeseni 2013 ponovimo apnjenje z istimi pripravki na istih parcelah, le da odmerke za kalcijev karbonat in hidratizirano apno določimo na podlagi preglednic po VDLUFA, gnojenje z *morskimi algami* pa v enakem odmerku 0,3 t/ha izvajamo vsako jesen (preglednica 1).



*Opomba: Pri rokovanju z vzorcem 'kontrola – brez apnjenja' je prišlo poleti 2015 do napake, zato meritve nismo izvedli in je črta tega obravnavanja zato na tem delu prekinjena.

Slika 2: pH tal glede na obravnavanje in datum meritve (0-25 cm); prva aplikacija marca 2012, ponovna aplikacija novembra 2013 (odmerki in termini v preglednici 1).

Figure 2: Soil pH in relation to the treatment and date of sampling (0-25 cm); the first application in March 2012, re-application in November 2013 (the rates and terms in Table 1).

pH tal se je po ponovnem apnjenju do aprila 2014 zelo povečal pri obravnavanjih kalcijev karbonat - trdi in kalcijev karbonat - mehki (na pH=6,8 oz. 6,7), pri obravnavanju hidratizirano apno je vrednost poskočila na pH=6,6, medtem ko je ostala vrednost pod pH 6 pri obravnavanju morske alge (pH=5,8) ter pri kontroli - brez apnjenja.

Do 9. julija 2014 je pH tal v primerjavi s pomladjo zopet padel pri vseh obravnavanjih, kakor je bilo to značilno tudi za prejšnji dve preučevani leti.

Jeseni 2014 se pH tal ni značilno razlikoval med obravnavanjema *morske alge* (pH=5,7) in *kontrola - brez apnjenja* (pH=5,5), značilno višji pH je bil pri obravnavanjih *kalcijev karbonat - mehki* (pH=6,4) in *hidratizirano apno* (pH=6,2). Značilno najvišji pH je bil pri obravnavanju *kalcijev karbonat - trdi* (pH=6,7).

Do poletja 2015 se je pH glede na pomlad 2015 pri obravnavanjih *kalcijev karbonat-trdi* in *kalcijev karbonat-mehki* malenkost povečal (medtem ko je vsako poletje prej pH tal pri vseh obravnavanjih padel glede na pomladanske meritve). S *kontrola - brez apnjenja* je bil v tem času primerljiv pH le pri obravnavanju *morske alge*, ostala obravnavanja so imela značilno višji pH. Pri obravnavanju *kalcijev karbonat - trdi* je bil pH tal že nad optimalnim za pridelavo hmelja, a še vedno znotraj ustreznega za preučevana tla. Pri obravnavanju *hidratizirano apno* je bil pH v meji ustreznega za pridelavo hmelja, zato smo se odločili, da v letu 2015 (še) ne bomo aplicirali naslednjega predvidenega obroka.

3.2 Pridelek hmelja in vsebnost alfa-kislin v storžkih

Tako v letu 2012 kot v letu 2013 dokazljivih razlik v pridelku hmelja sorte Celeia med obravnavanji ni bilo. Leto 2012 je bilo za rast in razvoj hmelja neugodno, pridelek je bil v poskusu povprečno le 1.250 kg/ha, v letu 2013 pa zaradi dolgotrajne suše in ekstremno visokih poletnih temperatur še slabši, povprečno le 770 kg/ha suhe snovi. Rastline so bile neizenačene, veliko je bilo neizoblikovanih storžkov, ozke in proti koncu sezone v slabi kondiciji. Tudi v deževnem letu 2014 ni bilo statistično značilnih razlik v pridelku hmelja med obravnavanji, povprečno pa je bil pridelek okrog 2.000 kg/ha suhe snovi.

V letu 2015 je imela *kontrola - brez apnjenja* dokazljivo manjši pridelek v primerjavi z vsemi drugimi obravnavanji. Pridelek je bil statistično značilno največji pri obravnavanju *hidratizirano apno*, od katerega se nista razlikovala še pridelka pri obravnavanjih *kalcijev karbonat - mehki* in *morske alge* (preglednica 2). Tudi glede na te rezultate se nakazuje, da je bil morda odmerek trdega apnenca (granulacije 0-1 mm) prevelik - to hipotezo bomo preučili v nadaljevanju poskusa, saj je trenutno pH še vedno v mejah ustrezne vrednosti za preučevana tla, a že dokaj visok za pridelavo hmelja.

Preglednica 2: *Pridelek hmelja (kg suhe snovi/ha) glede na obravnavanje v letu 2015*

Table 2: *Hop yield (kg dry matter/ha) with regard to treatment in year 2015*

Obravnavanje	Leto 2015
kalcijev karbonat - trdi	1561 b
kalcijev karbonat - mehki	1706 bc
morske alge	1712 bc
hidratizirano apno - Ca(OH) ₂	1788 c
kontrola - brez apnjenja	1387 a

*Enaka črka v stolpcu pomeni, da med obravnavanjema razlika ni statistično značilna (Duncanov test, p=0,05).

4 SKLEPI

V letu 2015 je imelo apnjenje značilno pozitiven vpliv na pridelek hmelja sorte Celeia, ne glede na uporabljeno apneno gnojilo, medtem ko v letih prej ne.

Zanimiv je pojav letnih nihanj pH tal; poleti se pH tal zaradi uporabe gnojil in aktivnosti tal zniža, potem pa se do jeseni spet poveča (slika 2). To je pomembna ugotovitev za vse kmetovalce; kontrolne meritve vrednosti pH na parceli je treba vedno izvajati v istem času leta, če želimo ugotoviti dejansko stanje/spreminjanje vrednosti tega parametra skozi čas.

Prvoten odmerek kalcijevega karbonata (2,3 t/ha), trdega in mehkega, ni imel zaznavnega vpliva na pH tal (pH=5,8), torej so bili odmerki, določeni po preglednicah po Schachtschablu, očitno premajhni in zato neučinkoviti. Zato smo v nadaljevanju poskusa želeli preveriti, ali naj bi tudi v naših razmerah svetovali odmerke po nemških preglednicah (po VDLUFA). Na tej podlagi določen odmerek kalcijevega karbonata, tako trdega kot mehkega (19 t/ha), je precej povečal pH tal že v enem letu, le-ta pa se je v sledečih letih še povečeval. Pri obravnavanju *kalcijev karbonat - trdi* (granulacije 0-1 mm) je bil pH tal jeseni 2015 že relativno visok (pH=7,2). Poskus bomo spremljali še naprej in sledili dogajanju v tleh kakor tudi vplivu na pridelek, da bomo lahko prišli do končnih sklepov. Trenutno se postavlja ena od hipotez, da je potrebno pri tako velikih odmerkih kalcijevega karbonata paziti, da se potrosi material res različne granulacije, ne le drobno mlet material (0-1 mm ali še drobnejši).

Vsakoletni jesenski odmerek 0,3 t/ha priprava iz *morskih alg* je bil sicer premajhen, da bi (zaenkrat) zaznavno vplival na pH tal, se je pa v letu 2015 pokazal značilno pozitiven vpliv tega ukrepa na pridelek hmelja.

Odmerek *hidratiziranega apna* zaenkrat ne bomo povečevali, kljub temu da je bil predviden glede na preglednice po VDLUFA celoten odmerek 9,25 t/ha. V jeseni 2013 smo namreč potrosili prvi obrok (2,5 t/ha) in je pH pri tem obravnavanju skočil v naslednjem letu že na 6,2, do poletja 2015 pa že na 6,4. Sledili bomo dogajanju (meritvam pH tal) in se kasneje glede na te rezultate odločili o morebitnem potrebnem drugem obroku, da bo pH ostal znotraj zelene vrednosti za pridelavo hmelja na preučevanih tleh.

S spremljanjem poskusa bomo nadaljevali.

5 VIRI

Agrometeorološka postaja Adcon Telemetry, tip postaje A 740, lokacija Žalec (arhiv IHPS)

Apnenenc IGM. Prospekt IGM Zagorje, 2012

Apnenenc iz morskih alg. Dostopno na: http://meko.si/uploads/meko/public/_custom/litho_letak.pdf (november 2015)

Brady NC, Weil RR. 1996. The Nature and Properties of Soils, eleventh ed. Prentice-Hall International, Inc., Upple Sadle River, NJ, USA: 739.

Comission regulation (EU) No 463/2013 of 17 May 2013. Official Journal of the European Union. L 134/1-134/14.

Čeh B, Čremožnik B. 2015. Vpliv različnih sredstev za apnjenje na pH tal. V: Hortikultura – možnosti, priložnosti, prenos dobre prakse, zbornik 7. strokovnega posveta s temo *Tla*. Celje, 11. november 2015: 91-94.

Čeh B. 2012. Hmelj od sadike do storžkov. Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec: 66.

- Čeh B. 2014. Effect of different rates of liming material to a pH value of soil. V: *Posters*. [S. l.]: International Fertiliser Society, 2014, str. 5-6.
- Davies DB, Payne D. 1988. Management of soil physical properties. In: Wild, A. (ed) *Russell's Soil Conditions and Plant Growth*, Eleventh Edition, Harlow, Essex, Longman: 412–448.
- Flisar Novak Z. 2014. Apnjenje njivskih tal. Dostopno na: <http://www.kgzs-ms.si/wp-content/uploads/2014/03/280314-1.pdf> (15. sep. 2015)
- Goulding, KWT. Factors affecting soil pH and the use of different limina materials. *Proceedings International fertilizer Society* 772, 2015, 32 s.
- Haynes RJ, Naidu R. 1998. Influence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 51: 123–137.
- IHPS. 2012. Katalog sort hmelja. Dostopno na: [file:///C:/Users/bceh/Downloads/URN-NBN-SI-DOC-PCIZRNSI%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/bceh/Downloads/URN-NBN-SI-DOC-PCIZRNSI%20(1).pdf) (september 2015)
- Leskošek, M. 1993. Gnojenje. Ljubljana: Kmečki glas: 197 s.
- Lithothamnium Calcareum. Dostopno na: <http://www.algae-facts.com/Lithothamnium-Calcareum> (november 2015)
- Mihelič R., Čop J., Jakše M., Štampar F., Majer D., Tojnko S., Vršič S. 2010. Smernice za strokovno utemeljeno gnojenje. Ljubljana: Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 182 s.
- Osman K.T., 2013. *Soil. Principles, Properties and Management*. Springer, New York, USA: 217.
- Paradelo R., Virto I., Chenu C. 2015. Net effect of liming on soil organic carbon stocks: A review. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 202 (2015): 98–107.
- VDLUFA. 2000. Bestimmung des Kalkbedarfs von Acker- und Grünlandböden Anlage. Richtwerte für das Rahmenschema zur Kalkbedarfsermittlung in Deutschland. Standpunkt. Dostopno na: <http://www.vdlufa.de/joomla/Dokumente/Standpunkte/0-9-kalkanl.pdf> (november 2015)

TRAINING MATERIALS USED IN A HOP PRODUCTION IN THE CZECH REPUBLIC

Pavel DONNER¹⁶, Josef JEŽEK¹⁷, Jaroslav POKORNÝ¹⁸

Strokovni članek / professional article

Prispelo / received: 5. oktober 2015

Sprejeto / accepted: 7. december 2015

Abstract

A development of the new materials usable as a support for growing hop in the Czech Republic (CR) stagnates. Despite the fact that we have materials (coir, paper, hemp etc.), that meet stringent ecological and environmental requirements such as biodegradability and ecological production, and at the same time meet the conditions necessary for use in hop growing, their use in practice is not accepted due to the high price of the material. Nowadays, annealed steel wire is the most used material in a hop production in the CR. Polypropylene twine (under commercial name Humulian) is used in lower extent (1.6 % of hop gardens in the CR). In case of steel wire, polypropylene twine is used for attachment of wires to the wirework at the ceiling, while Humulian is fixed directly by a knot. Environmentally friendly materials (hemp, jute, paper, sisal) are also tested as materials for attaching wires, but despite the promising results, the price of these materials is too high.

Keywords: hop / *Humulus lupulus* / wires / strings / twines

VODILA V PRIDELAVI HMELJA NA ČEŠKEM

Izvleček

Razvoj na področju novih materialov, ki bi bili primerni kot vodila v pridelavi hmelja, na Češkem stagnira. Kljub dejstvu, da obstajajo materiali (kokosova vrstica, papir, konopljena vrstica ...), ki izpolnjujejo ekološke in okoljske zahteve, kot so biorazgradljivost in ekološka proizvodnja, in imajo obenem ustrezne lastnosti za uporabo kot vodila za hmelj, se v praksi ne uveljavijo zaradi visoke cene. V pridelavi hmelja na Češkem se uporablja žica. Polipropilenska vrstica (s komercialnim imenom Humulian) se uporablja le v manjšem obsegu (1,6 % hmeljišč na Češkem). Žica se na konstrukcijo žičnice zgoraj priveže s polipropilensko vrstico, medtem ko se Humulian nanjo naveže neposredno z vozlom. Okoljsko prijazni materiali (konoplja, juta, papir, sisal), s katerimi bi se z navezalo žico na žičnico namesto polipropilenske, so v fazi testiranja, a kljub obetajočim rezultatom je cena teh materialov previsoka.

Ključne besede: hmelj / *Humulus lupulus* / žice / vodila / vrvice

1 INTRODUCTION

Hop plants must be grown on a string or a pole (or other kind of support), on which they climb up. This way plants create a favorable microclimate and are able to use solar energy and space for biomass production effectively. This principle of growing hop is known for almost a

¹⁶ Hop Research Institute, Co., Ltd., Kadaňská 2525, Žatec, 43846, Czech Republic, e-mail: donner@chizatec.cz and Czech University of Life Sciences, Kamýcká 129, Prague, Czech Republic, 16521, e-mail: donner@af.czu.cz

¹⁷ Hop Research Institute, Co., Ltd., Žatec, Kadaňská 2525, Žatec, 43846, e-mail: jezek@chizatec.cz

¹⁸ Hop Research Institute, Co., Ltd., Žatec, Kadaňská 2525, Žatec, 43846, e-mail: pokorny@chizatec.cz

thousand years. In such a long history material for training hop plants has undergone significant development, which continues even today. In hop producing countries, but also in regions within those countries, different kinds of support are being used. This is because of the historical development, tradition, experiences of hop growers, availability of materials, as well as ecological requirements.

Growing hop as a crop extended in the 12th century, when hop plants were already grown on wooden poles in hop gardens. The length of poles ranged from 5 to 8 (or even more) meters according to variety. Steel wires were used for the first time in 1850 in the Czech Republic. After World War I hemp twines were used for training. They were tossed over the wirework by means of different paperweights and were then fixed with a tie. In the 1930s these wines were replaced by cheaper annealed steel wire of approximately 1 mm diameter.

At the beginning, this wire was fixed by means of a special device but later by a simple bar to a hanging hook. Annealed steel wire is still used in the Czech Republic, but the technology of tying up has changed (Rybáček et al., 1980). Other materials are used now for training, particularly plastics, but also paper and coir are used and tested in the Czech Republic (Křivánek, 2010a). Hemp and jute twines are tested in Slovenia (Rijavec and Čeh, 2013).

2 MATERIALS USED FOR TRAINING HOP PLANTS IN THE CR

2.1 Steel wire

Steel wire of 1.06 - 1.25 mm in diameter is the most frequently used material to support hop bines in the Czech Republic. Wires (that are already cut to 8 m length) are delivered to hop growers in bunches of approximately 300 wires. Polypropylene twine is tied up to each wire, so the wire could be easily attached to the wirework at the ceiling of hop garden (Figure 1). Wire is fixed at the ceiling, it does not move in the wirework and is easily pulled down during a harvest. It's also easier for a staff to tie it up, which increases the labour productivity. Since relatively thin wire is used, polypropylene twine also prevents breaking the wire and falling hop plants during vegetation, because of decrease of friction between wires and corrosion. Most hop growers prepare wires themselves during the winter period (Figure 2). Some of them buy them from subcontractors. The price per one bunch ranges from 450 to 600 CZK (17 - 22 €). Preparing of wires helps to utilize employees during less-occupied period (Křivánek, 2010a).

The most common method of suspension of wires used in the Czech Republic, applied in hop-growing regions all over the world, involves a tractor-drawn platform (Figure 3). Wires are manually fixed to the wirework and slowly pulled out of bunches placed in plastic tubes as the platform moves forward (Rybáček et al., 1980). The average productivity is 230 – 280 tied wires/person/hour. The most common spacing used in Czech hop gardens is 300 x 100 cm. Some older hop gardens were made for 260 x 100 cm or 280 x 100 cm spacing. After suspension, a bottom part of wire is manually rolled up into so-called „bow“ and stuck in the ground near a hop crown. The part of wire stuck in the ground decays in 2 – 3 years due to corrosion (Rybáček et al., 1980; Křivánek, 2010a).



Figure 1: Tying of polypropilene twine on steel wire

Slika 1: Način navezave polipropilenske vrvice na žico



Figure 2: Winter preparation of bunches

Slika 2: Povezovanje žice in polipropilenske vrvice – zimsko opravilo

Benefits of using steel wire consist of proven production technology, higher effectiveness of the staff, quite low material costs as well as the possibility to occupy own employees during winter periods. Wire can be tightened also additionally, which prevent the bines to be slacked before harvest time (Křivánek, 2010a).

On the other hand, there are disadvantages in wire production. High weight that makes manipulation difficult, as well as impossibility to feed livestock with after-harvest biomass. Moreover, wire decays due to corrosion during the vegetation period by rain, pesticide and fertilizer sprays and irrigation water, which causes its reduction in the diameter by 17 - 20 %. That increases danger of breaking and falling bines. Wires also causes breakdowns of the picking machines, because they stuck in the rotating parts of harvester (Křivánek, 2010a).



Figure 3: Tractor-drawn platform for tying

Slika 3: Traktorski stolp za napeljavo vodil

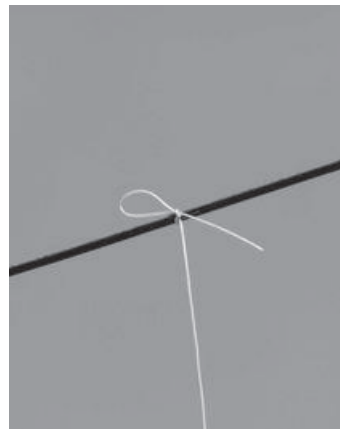


Figure 4: Humulian knot

Slika 4: Vozel s polipropilensko vrvico, imenovno Humulian

In 1985 the price was 3.63 CZK (0.13 €) per kg of wire. In subsequent years, the price steadily increased to a maximum of 22 CZK (0.81 €) per kg. Currently, in 2015, the price fell to 18.86 CZK (0.7 €) per kg. The total costs of buying wire rose from 1,500 CZK (55.5 €) per hectare in 1985 to 8,800 CZK (326 €) per hectare in 2008. The current average price for the wire is 7,543 CZK (280 €) per hectare.

2.2 Plastic string

Another support used in hop growing in the Czech Republic is „Humulian“. It is a commercial name for polypropylene strings used in lower extent in a hop region Ústěk (1.6 %, i.e. 70 ha of hop gardens in the CR).

The Humulian is delivered in bunches prepared for stringing as a product. The diameter is 1.4 mm. Its surface is coarsened to increase climbing ability of hop vines. Polypropylene strings are uniform not only in their length (8 m) but in the number in a bunch (1000 pcs.) as well. It is necessary to keep them away from sun radiation in storage, because sunlight causes their decay and decreases their carrying capacity. Their durability is dimensioned to sustain till a harvest while degradation process (by the effect of sunlight and chemical compounds) is in progress. The part of string placed in the ground doesn't decay. During the fixation to hop crowns it is recommended to tie a small metal hook on the end of the string, which helps to fix it (Křivánek, 2010a). Polypropylene strings were originally made of white color, but hop growers wanted it to be green, because of attaching fallen vines - white string was hard to see on a background of blue sky.

Using polypropylene strings have some pros and cons. Winter preparation of wire bunches drops off, it is not necessary to modify their length and to use any kind of twine for fixing it at the ceiling. Polypropylene strings are fastened directly by a knot (Figure 4). Easy manipulation with the bunches is another advantage of plastic strings (Křivánek, 2010a).

The need to tie a hook on the end of the string is one of the reasons, which impede expansion of using plastic string in practice, because of its time and economic demands. A great number of deflected vine tips is another disadvantage of these strings. It is more difficult to remove parts of strings tangled in rotating parts of a harvester, because of a thermal deformation. If hop plants are more robust, it is necessary to tie them up together in a row due to bigger slackness caused by elongation of the plastic strings (Křivánek, 2010a).

2.3 Coir twine

Coir twine was used only experimentally in a part of a commercial hop gardens at Stekník farm in 2008. Twines were 8 m long with 4 mm in diameter (Figure 5). The surface was very coarse. They were attached to the wirework directly by a knot. Due to their strength they could be fixed directly to the ground (Křivánek, 2010a).

Using of coir twine can be assessed very positively. Number of deflected vine tips in the experiment was much lower than in the case of plastic string. Hop plants were very well stuck to it because of its coarse surface. No plants fell down before harvest. It was not necessary to

tie up hop bines together due to slackness. Coir twine is also good from an ecological and environmental point of view, as it is biodegradable (Křivánek, 2010a).

On the other hand, this type of a twine made stringing more complicated. It was very difficult to disentangle twines from bunches. They tangled in the suspension platform and were difficult to fix to the ground in windy conditions, because they flitted. There were also many problems during the harvest. It was laborious to remove parts of bines left at the ceiling because of too high strength of the coir twine. Coir twines also caused many problems in active parts of hop picking machines. This material is also too heavy, it is nearly the same weight as steel wire. Bigger utilization in the CR depends on the development of an appropriate and effective technology. These disadvantages impede expansion despite its very good ecological and environmental characteristics (Křivánek, 2010a).



Figure 5: Coir twine
Slika 5: Kokosovo vodilo



Figure 6: Paper strings
Slika 6: Vodilo iz papirja

2.4 Paper string

Paper strings of three different diameters (4.2, 5.0 and 6.0 mm) were tested at a Stekník farm in 2009. It is known under the commercial name BioCord (Figure 6). Its surface is smooth and it is delivered in reels. The producer is able to adopt individual needs of each client. Paper strings were attached to the wirework directly by a knot. Lower parts were fixed to the ground also with the help of a knot. Winding of hop bines on these strings was similar as on coir strings with the minimum of deflected bine tips (Křivánek and Ježek, 2010b).

No fallen plants were found during the vegetation. Nevertheless, there were found some rotten parts of paper strings, which were in contact with soil after hilling. Although the plants were high enough at that time, the rotten strings caused slackness of hop plants, that made treatments against pests and diseases difficult during the vegetation. It was necessary to tie up

the bines together. The producer recommends using metal wires for fixing the end of paper string to the ground. It should prevent rotting. Unfortunately, this operation is very difficult to realize in practice because of its high labor demands (Křivánek and Ježek, 2010b).

There were no problems pulling down the bines during the harvest. Only parts of 6.0 mm strings and bines left at the ceiling after a harvest were difficult to pull down. No problems occurred in a hop picking machine. Practical utilization of paper string is possible of the same reason as the coir string, i.e. ecological and environmental impact. Nevertheless, missing suitable and effective technology of suspension to the wirework as well as fixing to the ground is a great disadvantage. It is also too heavy for a manipulation (Křivánek, 2010a).

2.5 Alternative attachment of wires

Recently, the research focuses on material change for fixing steel wires to the wirework at the ceiling. Polypropylene (PP) twine gets into the harvested product as the dopant and reduces its quality. The problem is also its presence in the soil. Alternative materials, such as hemp, jute, paper or sisal (cantala), are tested in the CR. The current results show perspective in using jute or hemp twines. During a harvest, hemp twine with a diameter of 1.8 mm obtained 100 % of rupture in a twine in the first case and 95 % in the second case, with spontaneous bine-fall rate of 0.68 %, respectively 0.34 % during a vegetation. Jute twine reached very good results too. The rupture in twine during a harvest occurred in 72 % of cases with only 0.06 % spontaneously fallen bines during a vegetation. Rybka et al. (2011) and Heřmánek et al. (2012) reached similar results in their experiments. However, the price of the material is crucial. It is 4.3-times higher in the case of hemp twine and 5.56-times higher in the case of jute twine, compared to PP twine. It might be possible to achieve a price reduction with a market research and by purchasing materials in large quantities (Vent et al., 2015).

3 HARVEST

The use of all above mentioned kinds of strings and twines allowed the same technique of harvest, so it was possible to compare the impact of various materials on this agrotechnological arrangement.

A tractor with a harvester and a single-axle transport trailer (with hydraulically operated side panels and a hydraulic motor driven rotating grate) passes row, while pulls down plants on the trailer (Figures 7 and 8). The harvester is equipped with a cutting device, which cuts each bine and then carries it with a chain conveyor (speed synchronized with the travel speed of the tractor) to the pulling drum, where the lower part of the plant is gripped, so it can be pulled down during the forward movement of the tractor and landed directly on transport trailer. Harvested bines are then transported to hop-picking machine, where the load is unloaded with rotating grate of the trailer. Each bine is then manually put in the chain conveyor of a hop-picking machine and drifted into the rotating plucking (picking) walls. After plucking the bare bine is conveyed to the cutter and branches, cones and leaves continue to hop-picker, where leaves and cones are separated from branches, and then to multiple mechanical and air cleaning. After cleaning, cones are either transported directly to the dryer or to the air-conditioned transport trailer, which transports clean cones to the dryer (if the dryer is not attached directly to the picking machine).



Figure 7: Tractor with a harvester
Slika 7: Traktor z trgalkom



Figure 8: Transport to the hop-picking machine
Slika 8: Transport k obiralnemu stroju

4 CONCLUSIONS

Although there are some perspective training materials, annealed steel wire is still going to be the most used material for training hop in the CR in the next decade. A proven technology, price of a material, relatively fast decay in soil, its strength and ability to support hop plants are properties that cannot be substituted with any other of the tested materials. Plastic string (Humulian) is easier to use, because winter preparation drops off, but there are problems like great number of deflected bine tips, difficult removing of wound strings tangled in rotating parts of a harvester and need to tie bines up together due to bigger slackness. Polypropylene string is also not environmentally friendly. Coir twines and paper strings are environmentally friendly, but there are disadvantages like complicated stringing, rotting of parts that are stuck in the soil during vegetation and, of course, price of a material. Unfortunately, Czech hop growers will not be opened to new, more ecological materials, until the (crucial factor) price reduces.

ACKNOWLEDGEMENTS

The work was supported by Ministry of Agriculture of CR, Institutional Support for the Development of Research Organization RO1486434704.

5 REFERENCES

- Heřmánek P., Rybka A., Honzík I., Vent L., Jošt B., Mašek J. Analysis of strength ratio of different hop strings. *Research in Agricultural Engineering*. 2012; 58(4): 148-154.
- Křivánek J. Hop wires and strings used in hop growing in CR. *Proceedings of 47th Hop Seminar in Slovenia*. 2010a; 56-65.
- Křivánek J., Ježek J. Výsledky pokusu s papírovým chmelovodičem značky BioCord. Nízké konstrukce a výživa chmele: Sborník přednášek ze semináře konaného 9. 2. 2010. (Low trellises and hop nutrition: Proceedings of Seminar on Feb 9th 2010). Hop Research Institute, Co., Ltd., Žatec. 2010b.
- Rijavec T., Čeh B. Mechanical properties of jute and hemp training strings from hop (*Humulus lupulus* L.) field experiments. *Hop Bulletin* 20 (2013): 5-20.

- Rybáček V., Fric V., Havel J., Libich V., Kříž J., Petrlik Z., Sachl J., Srp A., Šnobl J., Vančura M. Chmelařství (Hop Production). SZN, Prague. 1980; 426 p.
- Rybka A., Heřmánek P., Honzík I., Mašek J., Vent L. Analysis of various implementations of hop strings during hop production. *Plant, Soil and Environment*. 2011; 57(9): 441-446.
- Vent L., Rybka A., Heřmánek P., Honzík I., Jošt B., Podsedník J. Použití alternativních materiálů pro zavěšování chmelovodů. Sborník přednášek ze semináře konaného 19. 2. 2015. (Proceedings of Economic – technological seminar on Feb 19th 2015). Hop Research Institute, Co., Ltd., Žatec. 2015.

VREDNOTENJE DELOVANJA NIZKO CENOVNEGA SENZORJA ZA MERITVE KOLIČINE VODE V TLEH

Boštjan NAGLIČ¹⁹

Izvirni znanstveni članek / original scientific article

Prispelo / received: 12. oktober 2015

Sprejeto / accepted: 20. november 2015

Izvleček

Pri namakanju, predvsem kapljičnem, določamo količino in frekvenco namakanja na osnovi vrednosti dnevne evapotranspiracije, pri čemer je pomembno, da se pravilnost ocene evapotranspiracije kontrolira z merjenjem stanja vode v tleh. Na trgu je dostopnih veliko senzorjev, ki imajo različne tehnike delovanja. V tem članku primerjamo meritve volumske vsebnosti vode v tleh tovarniško kalibriranega Decagonovega 10HS senzorja z gravimetričnimi meritvami v meljasto-glinasto-ilovnatih tleh. Rezultati so pokazali, da se volumski deleži vode v tleh izmerjeni z Decagonovimi senzorji 10HS dobro ujemajo z dejanskimi gravimetričnimi meritvami na dveh lokacijah v talnem profilu meljasto-glinasto-ilovnatih tal. Zaključimo lahko, da se senzor v danih tleh lahko uspešno uporablja za nadzor pravilnosti izvajanja namakanja.

Ključne besede: namakanje / volumska vsebnost vode v tleh / kapacitivni senzorji

EVALUATION OF A LOW-COST SENSOR FOR SOIL MOISTURE MONITORING

Abstract

For irrigation, especially drip irrigation, the frequency and the amount of applied water are determined based on evapotranspiration. Soil moisture measurements are essential for verification of evapotranspiration estimation. There are many types of sensors available on the market, which use different techniques for soil moisture measurements. In this paper, measurements of volumetric water content in the silty clay loam soil using Decagon 10HS factory calibrated sensors are compared with corresponding measurements using gravimetric method. The results showed good agreement of volumetric water content measured with Decagon 10HS sensor and gravimetric method at two depths in silty clay loam soil. Therefore it can be concluded that the sensor can be successfully used for irrigation control in a given soil.

Key words: irrigation / volumetric water content / capacitance sensors

1 UVOD

Prakse, ki povečujejo produktivnost vode za namakanje (definirane kot rastlinski pridelek na enoto porabljene vode), lahko v času podnebnih sprememb predstavljajo pomembne prilagoditvene možnosti za vse svetovne produkcijske sisteme. Hkrati so in bodo potrebne tudi izboljšave učinkovitosti namakanja, ki so nujne za zagotavljanje vode za pridelavo hrane

¹⁹ Dr., univ. dipl. inž. agr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenija, e-pošta: bostjan.naglic@ihps.si

v navzkrižju interesov med zagotavljanjem prehranske varnosti ljudi in ravnovesju v naravi (Bates in sod., 2008).

Za obe trenutni osnovni tehnologiji namakanja hmelja (kapljično ter z razpršilci oz. bobnastimi namakalniki) velja, da je potrebno za pravilno uravnavanje namakanja poznati potrebe rastlin po vodi v določenih razvojnih stadijih, klimatske dejavnike (evapotranspiracijo) ter podatke o tleh oziroma njihove vodnozadrževalne lastnosti. Pri namakanju, predvsem kapljičnem, določamo količino in frekvenco namakanja na osnovi vrednosti dnevne evapotranspiracije (ET), pri čemer je pomembno in zelo priporočljivo, da se pravilnost ocene ET kontrolira z merjenjem stanja vode v tleh (Knapič, 2002). Namakanje samo na osnovi ocen dnevne ET ni zadovoljivo. Nestrokovno izvajanje namakanja ima lahko negativen vpliv na kakovost in količino pridelka, in lahko posledično poveča stroške delovanja sistema, poveča porabo vode ter njen površinski odtok ter poveča možnost izgub vode v podtalje oziroma pod glavno maso korenin rastlin. To lahko vodi do izpiranja rastlinskih hranil (npr. nitratov) in ostankov sredstev za varstvo rastlin.

Stanje vode v tleh se lahko določi z neposrednimi (vzorčenje tal) in posrednimi (zaznavanje vlage v tleh) metodami. Neposrednih metod spremljanja količine vode v tleh se običajno ne uporablja za uravnavanje namakanja. Te namreč posežejo v talni profil, predvsem pa so časovno in tudi fizično zahtevne ter ne omogočajo takojšnje povratne informacije o količini vode v tleh. Senzorji za spremljanje količine vode v tleh so lahko trajno nameščeni na reprezentativnih mestih namakanega zemljišča, s čimer zagotavljajo zvezne meritve količine vode v tleh in so tako bolj primerni za upravljanje namakanja. Posebna pozornost je potrebna pri uporabi tovrstnih naprav v tleh z grobo teksturo ali veliko vsebnostjo skeleta, saj večina naprave zahteva tesne stike s talnimi delci, kar pa je v takšnih tleh težko doseči (Munoz-Carpena, 2005). Posredne metode za spremljanje količine vode v tleh so najbolj uporabne. Obširnejši pregled razpoložljivih metod za meritve stanja vode v tleh so podane v Munoz-Carpena (2004).

Uporaba senzorjev za meritve stanja vode v tleh predstavlja osnovo za strokovno utemeljen in učinkovit način upravljanja z namakalnim sistemom. Senzorji za spremljanje količine vode v tleh, ki so na trgu vedno bolj dostopni, se lahko, na primer v kombinaciji z vremensko postajo, uspešno uporabljajo kot podpora namakanju ter so določenih primerih alternativa tenziometrom.

2 MATERIAL IN METODE DELA

V letih 2014 in 2015 smo na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) na težkih tleh preizkušali delovanje 10HS senzorjev (Decagon Devices, Inc.) za merjenje količine vode v tleh (slika 1). V nenamakanem hmeljišču smo v talni profil v vrstnem prostoru, na začetku rastle sezone hmelja v letu 2014, vstavili dva senzorja v horizontalni smeri, in sicer na globini 20 in 40 cm (slika 2). Senzorja sta bila povezana z vremensko postajo iMetos (Pessl Instruments) (slika 3). V letu 2014 so bile sonde vstavljene v vrstnem prostoru devetletnega nasada hmelja sorte Dana, v letu 2015 pa je bil na preučevani lokaciji vzpostavljen nov nasad hmelja sorte 74/134 (sorta v preizkušanju).

Senzor 10HS deluje na osnovi kapacitivnostne tehnike. Meri dielektrično konstanto tal z namenom, da ugotovi volumsko vsebnost vode v tleh. Ker je dielektrična konstanta vode mnogo višja (80) kot tista od tal ali mineralov v tleh (2-4) in zraka (0), je dielektrična konstanta tal občutljiva mera volumske vsebnosti vode v tleh (vol. %) (Decagon Devices, Inc.).



Slika 1: Senzor Decagon 10 HS
Figure 1: Decagon 10HS soil moisture sensor



Slika 2: Horizontalno vstavljena senzorja Decagon 10HS na globinah 20 in 40 cm

Figure 2: Horizontally inserted Decagon 10HS sensors at the soil depth of 20 and 40 cm

Senzor na podlagi povprečne spremembe dielektrične konstante preko programske opreme poda podatke o količini vode v njeni okolici. 10HS ima majhno porabo energije in zelo visoko resolucijo meritev volumske vsebnosti vode v tleh. To daje možnost izvajanja veliko meritev v daljšem časovnem obdobju z minimalno porabo energije. Senzor 10HS ima dolžino elektrod 10 cm in opravlja meritve s frekvenco 70 MHz, s čimer je zmanjšan vpliv zasoljenosti tal in teksture tal na meritve. 10HS je nadgradnja njene predhodnice EC-5, ki je bila Decagonov prvi in najbolj popularen senzor, ki je prav tako uporabljal frekvenco 70 MHz.

10HS ima v primerjavi z njeno predhodnico dve veliki prednosti, saj omogoča napajanje senzorja s širokim razponom napetosti (3 do 15 V) brez potreb po ponovni kalibraciji in večji obseg zaznavanja (1100 cm³ tal), kar se kaže v bolj robustni oceni stanja vlažnosti tal (Mittelbach, 2011; Decagon Devices, Inc.).

Senzor podaja vsebnost vode v tleh v vol. %. Z uporabo standardne kalibracijske enačbe lahko izvaja meritve volumske vsebnosti vode v tleh z natančnostjo ± 3 vol. %. Z uporabo specifične kalibracije se ta natančnost izboljša na ± 2 vol. %. Senzor meri vsebnost vode v tleh v razponu od 0 do 57 vol. % pri temperaturi od -40 do $+50$ °C.

Senzorja, uporabljena v tej raziskavi, sta že bila predhodno tovarniško kalibrirana za tipična mineralna tla (tla, ki vsebujejo manj kot 20 % organskega ogljika). S programsko opremo, ki ni znamke Decagon, je uporabljena naslednja kalibracijska enačba:

$$\text{vol. \% (m}^3/\text{m}^3) = 2,97 \times 10^{-9} * \text{mV}^3 - 7,37 \times 10^{-6} * \text{mV}^2 + 6,69 \times 10^{-3} * \text{mV} - 1,92$$

kjer vol. % pomeni volumsko vsebnost vode v tleh, mV pa predstavlja mili volt.



Slika 3: iMetos vremenska postaja (Pessl Instruments) (Foto: B. Naglič)
Figure 3: iMetos weather station (Pessl Instruments)



Slika 4: Vzorčenje tal za kontrolo pravilnosti delovanja vstavljenih Decagon 10HS senzorjev (Foto: B. Naglič)
Figure 4: Soil sampling at a site for the purpose of checking the correct operation of Decagon 10HS sensor

Delovanje senzorjev je bilo primerjano z dejanskimi meritvami vsebnosti vode v tleh dvakrat v rastni sezoni 2014 (22.5. in 10.6.) in trikrat v rastni sezoni 2015 (21.4, 9.6. ter 7.7.) (slika 4). Za namen primerjanja smo količino vode v tleh določili po standardni gravimetrični metodi (Topp and Ferre, 2002). Odvzete vzorce tal smo do tehtanja v laboratoriju hranili v hermetično zaprtih posodah. Vzorčili smo v treh ponovitvah v neposredni bližini vstavljenih senzorjev (v max. razdalji do 2,5 m, kolikor znaša medvrstna razdalja), v vrstnem prostoru, kjer smo predvidevali, da so fizikalne lastnosti tal čim bolj primerljive. Vzorčili smo v sončnem in suhem vremenu, najmanj 3 dni po dežju.

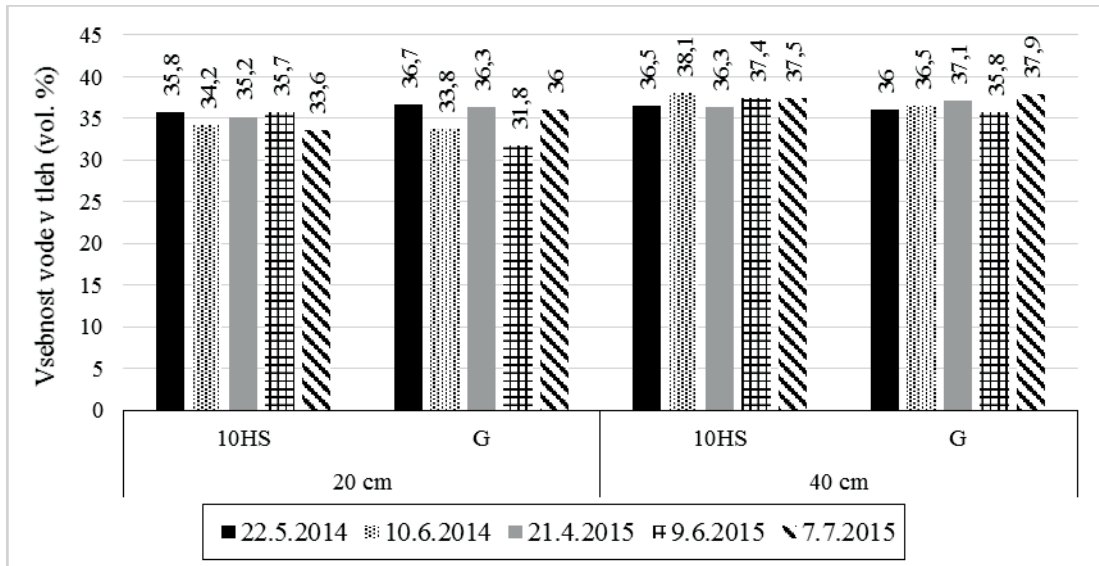
Analiza tal je na mestu vstavljenih senzorjev pokazala, da imajo tla do 30 cm globine 3 % skeleta in spadajo v teksturni razred meljasto-glinasta-ilovica (težka tla) z 18,3 % peska, 46,8 % melja in 34,9 % gline. Na dveh globinah tal, kjer sta bila vstavljena sensorja, je bila določena gostota tal (v petih ponovitvah, s Kopeckijevimi cilindri), ki bila na globini 20 cm $1,51 \text{ g/cm}^3$ in na globini 40 cm $1,46 \text{ g/cm}^3$. Poljska kapaciteta tal za vodo je bila za obe globini tal okoli $0,37 \text{ cm}^3/\text{cm}^3$ (37 vol. %), točka venenja pa okoli $0,20 \text{ cm}^3/\text{cm}^3$ (20 vol. %).

Za statistično analizo ujemanja merjenih in modeliranih rezultatov je bila uporabljena celotna napaka (RMSE) (Wallach, 2006) in parni t-test. RMSE se uporablja za primerjavo izmerjenih in simuliranih vrednosti vzorca in predstavlja povprečno razdaljo (vrednost) med izmerjenimi in simuliranimi vrednostmi. Nižje RMSE vrednosti predstavljajo boljše prileganje dejanskih in simuliranih vrednosti.

3 REZULTATI Z DISKUSIJO

Rezultati kažejo, da 10HS senzorji v danem tipu tal (meljasto glinasta ilovica) zelo dobro ocenijo dejansko vsebnost vode v tleh (slika 5). Na globini 20 cm je bila povprečna vrednost

vode v tleh 34,9 vol. % za gravimetrično metodo (n = 5) in 34,9 % pri meritvah z 10HS senzorjem. Na globini 40 cm je bila povprečna vsebnost vode v tleh 36,7 vol. % za gravimetrično metodo (n = 5) in 37,2 za meritve z 10HS senzorjem (preglednica 1).



Slika 5: Volumske vsebnosti vode v tleh (vol. %) na dveh globinah tal, izmerjene z Decagon 10HS senzorji (10HS) in gravimetrično metodo (G)

Figure 5: Volumetric water content (vol. %) at two soil depths measured with Decagon 10HS soil moisture sensor (10HS) and gravimetric method (G)

Preglednica 1: Statistični rezultati in parni *t*-test za pet parov meritev vsebnosti vode v tleh na dveh globinah z gravimetrično metodo in senzorji 10HS

Table 1: Results of statistics of paired *t*-tests for the five-pair measurements of soil water content at two soil depths using gravimetric method and decagon 10HS sensor

Globina tal (cm)	Povprečje		Standardna odklon (s_d)		<i>t</i> -test (parni)*	
	Decagon 10HS	Gravimetrično	Decagon 10HS	Gravimetrično	<i>t</i>	kritičen
20	34,9	34,92	0,93	4,307	-0,018	2,776
40	37,16	36,66	0,558	0,733	1,008	2,776

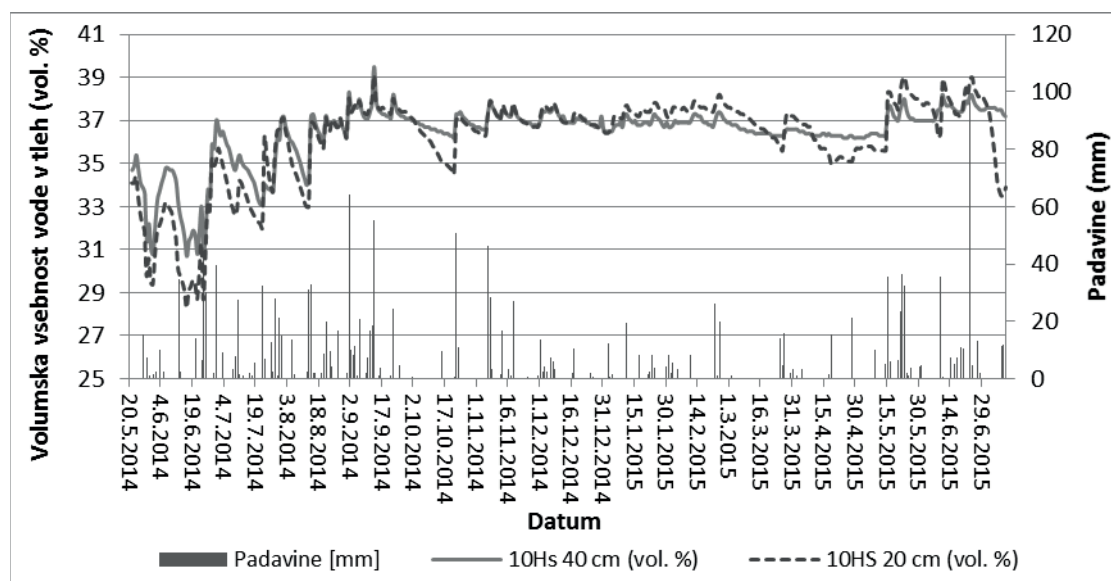
*stopinje prostosti (n-1 = 4), $\alpha = 0.05$

Rezultati so pokazali, da se volumski deleži vode v tleh, izmerjeni z Decagonovimi senzorji 10HS, dobro ujemajo z dejanskimi gravimetričnimi meritvami na dveh globinah v talnem profilu. Vrednosti RMSE vsebnosti vode v tleh so za primerjane podatke na globini tal 20 cm znašale 2,15 vol. % in na globini 40 cm 1,11 vol. %.

Test preizkusa parov (*t*-test) smo uporabili za primerjavo razlik med vsakim parom meritev na dveh posameznih globinah tal za dva različna načina določanja vlage v tleh (gravimetrično in

s senzorji 10HS). Sprejeta je bila ničelna domneva, ki pravi, da je povprečje razlik vsebnosti vode v tleh določene z gravimetrično metodo in z Decagon 10HS senzorji enako 0. Z drugimi besedami, rezultati so pokazali, da vrednosti vsebnosti vode v tleh določenih z 10HS senzorji pri stopnji značilnosti 0,05 niso bistveno drugačne od vrednosti določenih z gravimetrično metodo (preglednica 1). Zato je bila sprejeta ničelna domneva, kar pomeni, obe metodi za določanje vsebnosti vode v tleh ne dajeta statistično različnih rezultatov.

Ker so rezultati pokazali, da so Decagon 10HS senzorji primerni za spremljanje dinamike vode v meljasto-glinasto-ilovnatih tleh, na sliki 6 predstavljamo njihove meritve na dveh globinah v meljasto-glinasto-ilovnatih tal (20 in 40 cm) in padavine v obdobju od 20. 5. 2014 do 10. 7. 2015. V letu 2014, ki je bilo nadpovprečno deževno (v celem letu 2014 je na lokaciji Celje-Medlog padlo 1436 mm dežja, povprečje letnih padavin v obdobju 1971-2000 pa znaša 1129 mm), je bila vodna bilanca na celjskem in v osrednji Sloveniji negativna le v prvi polovici meseca maja. V drugi dekadi maja so se tla zopet dobro založila z vodo, a se je stanje v zadnji dekadi maja zopet poslabšalo. V začetku meseca junija je vročinski val rastline potisnil v sušni stres, stanje vode v tleh na globini 20 cm pa je padlo pod 29 vol. %. Stanje vlažnosti tal se je izboljšalo v drugi polovici meseca junija, ko so nastopile nižje temperature zraka in pogoste padavine. Sledilo je dokaj nestanovitno vreme s pogostimi plohami in nevihtami ter z zadovoljivim (nad 33 vol. %) stanjem vode v tleh (slika 6).



Slika 6: Padavine (mm) in nihanje količine vode v tleh (vol. %) izmerjene z Decagon 10HS na dani (nenamakani) lokaciji na globinah 20 in 40 cm v obdobju od 20.5.2014 do 10.7.2015

Figure 6: Percipitation (mm) and soil water content variation (vol. %) measured with Decagon 10HS for given (non-irrigated) location at two soil depths at 20 and 40 cm for a period from 20.5.2014 to 10.7.2015

Zaradi manjšega odvzema vode prvoletnih rastlin hmelja (manjše evapotranspiracije) se stanje vode v tleh, v vegetacijskem obdobju 2015, na dani lokaciji ni kritično znižalo (v primerjavi s stanjem vode v tleh v začetku vegetacijskega obdobja 2014) ter se je večino časa gibalo nad

35 vol. %. Izrazit padec vsebnosti vode v tleh (na okoli 33 vol. %) se je na globini 20 cm zaradi ekstremno visokih temperatur zraka pojavil edino v začetku meseca julija (slika 6).

Glede na dobro ujemanje meritev vsebnosti vode v tleh med gravimetrično metodo in Decagon 10HS senzorji, lahko predvidevamo, da bi, v primeru sušnih razmer oz. znižanja količine vode v tleh pod kritično točko, kjer je potrebno pričeti z namakanjem z razpršilci (28 vol. %), le-ti ustrezno sprožili namakanje. Podobno lahko predvidevamo za upravljanje kapljičnega namakanja, kjer je potrebno vsebnost vode v tleh vzdrževati pri točki poljske kapacitete (38 vol. %). Naj še enkrat poudarimo, da lokacija, kjer so bile vstavljene sonde ni bila namakana, ter da je namen članka le ovrednotenje natančnosti delovanja nekalibriranih Decagon 10HS senzorjev v danem tipu tal, ne pa preverjanje njihovega delovanja za namen uravnavanja namakanja (v tem primeru bi morale biti sonde vstavljene v namakan starejši nasad hmelja, ki ima večje potrebe po vodi oz. večji odvzem vode iz tal).

4 ZAKLJUČEK

Rezultati so pokazali, da so Decagon 10HS senzorji primerni za spremljanje dinamike vode v težkih glinasto-meljasto-ilovnatih tleh, kljub temu da je bila uporabljena tovarniška kalibracija za tipična mineralna tla. Na osnovi enega testiranja Decagon 10HS sonde v enem tipu tal sicer ne moremo sklepati, da sonda s tovarniško kalibracijo dobro deluje tudi v drugih talnih tipih v Sloveniji, zato bi bila smiselna testiranja še na drugih talnih tipih. Raziskave so namreč pokazale, da prav tako pogosto uporabljena tehnologija za meritev stanja vode v tleh TDR (Time Domain Reflectometry) metoda, katerih senzorji delujejo na višjih frekvencah, omogoča doseganje večje natančnosti kot tehnologije, ki delujejo na osnovi kapacitivnostne tehnike (Decagon 10HS) (npr. Robinson in sod., 2008). Senzorji, ki delujejo na osnovi kapacitivnostne tehnike, so manj natančni kot TDR, a so tudi bistveno cenejši, kar poveča dostopnost tehnike in omogoča uporabo več senzorjev in s tem gostejšo mrežo spremljanja količine vode v tleh v prostoru. Za ustrezno verifikacijo bi bilo potrebno poskus ponoviti ter senzorje preveriti na več lokacijah z različnimi talnimi tipi in podnebnimi značilnostmi ter po potrebi izvesti specifično kalibracijo senzorjev. Natančne in neprekinjene meritve nihanja vsebnosti vode v tleh so bistvenega pomena za pomoč pri ustreznem upravljanju namakanja, s čimer se lahko doseže visoka učinkovitost porabe vode.

Zahvala

Za omogočanje izvajanja poskusa se zahvaljujemo podjetju Efos d. o. o.

5 VIRI

- Bates, B.C., Kundzewicz, Z.W., Wu, S., Palutikof, J. P. Climate Change and Water. Technical Paper of the Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC Secretariat, Geneva, 2008; 210 s.
- Decagon Devices, Inc – user manual. Version: May 21.2014 – 1:55:30.
- Knapič M. Namakanje hmeljskih nasadov. V: Priročnik za hmeljarje. Majer D. (eds). Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec, 2002; 169-179.
- Mittelbach H., Casini F., Lehner I., Teuling A. J., Seneviratne S. I. Soil moisture monitoring for climate research: Evaluation of a low-cost sensor in the framework of the Swiss Soil Moisture Experiment (SwissSMEX) campaign, J. Geophys. Res., 2011, 116, D05111, doi:10.1029/2010JD014907.
- Munoz-Carpena R, Dukes M.D. Automatic irrigation based on soil moisture for vegetable crops IFAS extension. University of Florida, 2005.

- Munoz-Carpena, R. Field Devices for Monitoring Soil Water Content. Extension Bul. 343 of the Dept. of Agr. and Bio. Engineering, University of Florida, 2004.
- Robinson D. A., Campbell C. S., Hopmans J. W., Hornbuckle B. K., Jones S. B., Knight R., Ogden F., Selker J., Wendroth O. Soil moisture measurements for ecological and hydrological watershed scale observatories: A review, *Vadose Zone J.*, 2008, 7(1): 358–389.
- Topp G.C. Ferre P.A. Methods for Measurement of Soil Water Content: Thermogravimetric Using Convective Oven-Drying, 2002, p. 422-424. In J.H.Dane, and G.C.Topp(ed.) *Methods of Soil Analysis: Part 4 Physical Methods*. Soil Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc.
- Wallach D. Working with dynamic crop models - evaluation, analysis, parameterization and applications. Elsevier B.V, 2006; 462 s.

PRIMERJAVA RAZVOJA NAMAKANJA V SLOVENIJI Z GLOBALNIM TRENDOM

Rozalija CVEJIC²⁰, Vesna ZUPANC²¹ in Marina PINTAR²²

Pregledni znanstveni članek / review scientific article

Prispelo / received: 11. oktober 2015

Sprejeto / accepted: 7. december 2015

Izveček

Z namenom spodbujati okolju prijazno konkurenčno kmetijsko gospodarstvo v Sloveniji je Republika Slovenija s Programom razvoja podeželja 2007-2013 financirala izgradnjo devetih projektov namakanja, od tega sedem novogradenj na skupni površini 1753,4 ha in dve posodobitvi na skupni površini 396,0 ha. Podprti projekti so locirani v Pomurju, Podravju, Posavju in Savinjski dolini. Za vse projekte je bilo skupno dodeljenih 11,54 mio EUR. Investitorji so bili pri pridobivanju sredstev uspešni, saj so v povprečju uspeli pridobiti 88 % zaprošenih sredstev. Najbolj intenziven razvoj novih namakalnih sistemov je v obdobju 2007-2013 potekal na območju občin Murska Sobota, Ormož in Gorišnica. Za izvedbo novogradenj so bile občine enako pomembne kot zasebna podjetja, za posodobitve je bila ključna zadruga. V obdobju 2007-2013 je bil razvoj VNS v Sloveniji usmerjen v novogradnje, kar je obratno od svetovnega trenda, ki je bil v tem času usmerjen v posodobitve VNS. V obdobju 2014-2020 so ukrepi razvoja namakanja še naprej usmerjeni v gradnjo novih VNS, a je prepoznan tudi pomen učinkovitosti delovanja obstoječih VNS. Slovenija v obdobju 2014-2020 sledi globalnemu trendu ukrepov za posodobitev namakalnih sistemov, ki niso usmerjeni samo v tehnične ukrepe ampak tudi v dvig znanja o namakanju med pridelovalci in kmetijskimi svetovalci.

Ključne besede: razvoj namakalnih sistemov / posodobitve namakalnih sistemov / Slovenija

DEVELOPMENT OF IRRIGATION IN SLOVENIA FROM A GLOBAL PERSPECTIVE

Abstract

To promote environmentally friendly competitive agricultural economy the Republic of Slovenia, through the Rural Development Programme 2007-2013, financed construction of nine large-scale irrigation systems (LIS). Seven new projects were financed on a total area of 1753.4 ha and two modernizations on a total area of 396 ha. Supported projects are located in the Pomurje, Podravje, Posavje and Savinja Valley regions, having received 11.54 million EUR total. Investors have been successful in obtaining funds, obtaining on average 88 % of the funds requested. The most intensive development of new LIS in the period 2007-2013 took place in the municipalities of Murska Sobota, Ormož and Gorišnica. Municipalities and private companies were equally important for carrying out the newly built LIS, while the farmers' cooperative was the key investor in irrigation modernization projects. In the period 2007-2013 the development of LIS was directed towards building new, rather than modernising the existing, which is the opposite to the global trend at that time. In the period 2014-2020, it continues to focus construction of new LIS, but also recognizes the importance of modernising the existing. Slovenia in the period 2014-2020 captures to some extent the global trend of modernizing

²⁰ Asist., dr., univ. dipl. inž. agr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, e-pošta: rozalija.cvejic@bf.uni-lj.si

²¹ Doc., dr., univ. dipl. inž. agr., prav tam., e-pošta: vesna.zupanc@bf.uni-lj.si

²² Prof., dr., univ. dipl. inž. agr., prav tam., e-pošta: marina.pintar@bf.uni-lj.si

LIS, directed towards technical improvements and increase of knowledge between farmers and agricultural extensions service.

Key words: irrigation development / irrigation / modernization / Slovenia

1 UVOD

Delujoči in dobro vzdrževani namakalni sistemi omogočajo gospodarsko konkurenčno kmetijsko pridelavo. Po Zakonu o kmetijskih zemljiščih (ZKZ, 2011) se namakalni sistemi v Sloveniji delijo na velike namakalne sisteme (VNS), ki so namenjeni večjemu številu uporabnikov za skupno rabo po namakalnem urniku, in male namakalne sisteme (MNS), ki so namenjeni enemu ali več uporabnikom, ki pa uporabljajo namakalni sistem neodvisno drug od drugega. Predlog Zakona o spremembah in dopolnitvah zakona o kmetijskih zemljiščih (Predlog ZKZ, 2012) opušča delitev namakalnih sistemov na velike in male. Novost, ki jo uvaja je delitev namakalnih sistemov na državne (v lasti Republike Slovenije), javne (v lasti občin) in zasebne namakalne sisteme (v lasti fizičnih ali pravnih oseb).

Po Growing (2006) namakalne sisteme običajno najprej ločimo po tehničnih lastnostih in organizacijski strukturi, ki je potrebna za njihovo delovanje. de Fraiture in Giordano (2014) opisujeta, da izgradnjo MNS velikokrat samoiniciativno načrtujejo in financirajo pridelovalci sami, medtem ko načrtovanje in financiranje VNS poteka mnogo bolj kompleksno in vodeno, zaradi večje površine VNS v primerjavi z MNS, in posledično večjega števila lastnikov zemljišč in finančno zahtevnejše finančne konstrukcije. Pomembna razlika je tudi, da MNS upravljajo lastniki sami, samostojno, medtem ko VNS upravlja skupina lastnikov, organiziranih v namakalno skupnost (pravno osebo), ki denar za vzdrževanje zbirajo na organiziran način, upravljanje pa običajno predajo izbranemu upravljavcu. Največkrat je razlika med MNS in VNS v površini. MNS navadno niso večji od 10 ha, medtem ko VNS običajno merijo 50 ha in več. MNS se v veliko državah po svetu razvijajo mnogo manj kontrolirano kot se razvijajo VNS, katerih načrtovanje je bolj kompleksno in dolgotrajnejše od MNS.

Znanstvena raziskovalna pozornost na področju namakanja v Sloveniji je bila v preteklosti posvečena na primer ugotavljanju vpliva in načina namakanja ali sušnega stresa na rast kmetijskih rastlin in kakovost pridelka (Podgornik in sod., 2012; Šircelj in sod., 2007; Šturm in sod., 2010; Ceglar in Kajfež, 2012; de Luis in sod., 2011; Podgornik in Bandelj, 2015; Naglič in sod., 2014), ugotavljanju vpliva različnih načinov namakanja na razvoj plevelov (Simončič in Knapič, 2004), ugotavljanju vpliva namakanja na spiranje hranil v podzemno vodo (Pintar in Knapič, 1998; Zupanc in sod., 2011; Uhan in sod., 2011), uporabnosti namakanja v fitoremediacijske namene (Justin Zupančič in sod., 2010; Zupanc in Justin Zupančič, 2010) in preverjanju kakovosti vode za namakanje v hidroponskih sistemih (Boben in sod., 2007; Mehle in Ravnikar 2012). Elliott in Udovč (2005) ter Erjavec in sod. (1998) so o namakanju razpravljali kot o infrastrukturnem posegu za povečanje obsega ekosistemskih storitev krajine. Prav tako so bile ocenjene možnosti rabe vodnih virov za namakanje na območju Slovenije upoštevaje trenutne standarde varovanja vodnega in drugega okolja (Gabrovšek in sod., 2011; CRP, 2010; CRP, 2012; Cvejić in sod., 2012; Glavan in sod., 2013) in stanje rabe in potrebe po posodobitvah namakalnih sistemov (CRP, 2013; Cvejić in sod., 2013).

Znanstveni prispevki s področja namakanja v Sloveniji redko poskušajo umestiti stanje razvoja namakanja v globalno sliko razvoja namakanja. Zato prispevek analizira, kako je Slovenija v zgodovini sledila in kako z načrtovanim razvojem VNS v obdobju 2014-2020 sledi globalnim trendom razvoja namakanja. V prispevku je preverjena hipoteza, da so trendi razvoja namakanja v Sloveniji enaki globalnim trendom.

2 PREGLED LITERATURE

Hussain in Hanjara (2004), ki sta preučevala dokaze za izboljšanje blaginje pridelovalcev v Aziji, sta zapisala, da namakanje pomaga dosegati številne cilje, ki so si, upoštevaje načela trajnostnega razvoja, med seboj enako pomembni. Razumemo ga kot način izboljšanja blaginje pridelovalca in širše družbe. Pomaga dosegati večje pridelke, kar lahko poveča ekonomske dobrobiti prodaje kmetijskih izdelkov in pridelkov. FAO (2002) v priročniku za namakanje navaja, da je ob uporabi namakanja pridelek na enoto površine večji kot pridelek, ki ga omogoča kmetijstvo, odvisno samo od dežja. Namakanje je torej tehnična prilagoditev rastlinske pridelave na neenakomerno razporeditev padavin, ki ima že 4000 let dolgo zgodovino (Turall in sod., 2010). Analiza, ki so jo izvedli Schultz in sod. (2005) je pokazala, da, globalno gledano, namakalni sistemi pokrivajo 270 milijonov ha oz. 18 % kmetijskih zemljišč in, da z namakanjem dosegamo 40 % globalnega pridelka, za kar porabimo 70 % vse načrpane vode iz rek in podzemnih vodonosnikov.

Plusquellec (2002) ugotavlja, da so javne investicije v nove VNS po obsegu dosegle svoj vrh v obdobju 1960-90 in se po tem zmanjšale, kar je upočasnilo razvoj novih VNS. Plusquellec (2002) analizira najpogostejše vzroke za zmanjšanje investicij v razvoj novih VNS in izpostavlja, da so to prostorske in okoljske omejitve, nizka cena hrane, višji strošek izgradnje na enoto površine, ker so bili namakalni sistemi na najugodnejših območjih že vzpostavljeni ter preusmeritev investicij v posodobitve namakalnih sistemov. Danes so ukrepi razvoja namakanja usmerjeni v izboljšanje učinkovitosti obstoječih namakalnih sistemov in ne toliko v razvoj novih namakalnih sistemov (Schultz in De Wrachien, 2002; Turrall in sod., 2010; Burt, 2013). Odprta ostajajo vprašanja, kaj obsegajo posodobitve VNS, način izvedbe posodobitev ter kakšni so učinki posodobitev VNS.

Ukrepi za izboljšanje učinkovitosti delovanja namakalnih sistemov se delijo v dve veliki skupini, v tehnične investicije in ukrepe za odpravljanje pomanjkljivosti v upravljanju namakalnih sistemov (Plusquellec, 2002; Playan in Mateos, 2006). Vendar Burt (2013) opozarja, da so tehnološke posodobitve le delček celostnih posodobitev in niso točka, kjer naj se posodobitve začnejo. Burt (2013) zagovarja, da mora proces posodobitve namakalnih sistemov obsegati najprej izobraževanje tistih, ki posodobitve snujejo ter zajemati premislek o tem, kaj želimo s posodobitvijo doseči ter kako to izvesti. Na obstoječih namakalnih sistemih se namreč srečujemo z nizko stopnjo rabe sistemov in nezadovoljivim delovanjem sistemov, za kar je mnogo različnih vzrokov.

Med učinki izboljšane delovanja VNS Playan in Mateos (2006) izpostavljata povečevanje učinkovitosti rabe vode, ki se lahko odrazi v povečanem pridelku ali vrednosti pridelka na enoto dodane vode. Perry (1999) opisuje, da je te učinke mogoče doseči na več načinov, kot na primer z izboljšanjem razporeditve vode po namakalnem sistemu ter vpeljavo urnika

namakanja. Pri tem ni nujno, da je končni izid ukrepa zmanjšanje količine porabljene vode za namakanja, ampak ustvarjanje prostih količin vode, da bi se lahko napravila razširitev namakalnega sistema (Perry, 1999). Tarjuelo in sod. (2015) in Soto-Garcia in sod. (2013) navajajo, da je zelo pogost ukrep pri posodabljanju VNS nadomeščanje odprtih kanalov in gravitacijskih sistemov s tlačnimi sistemi. Zhang in sod. (2013) izpostavljajo nameščanje namakalnih ur in merilcev pretoka in rednega vzdrževanja namakalnih sistemov.

Na učinkovitost rabe VNS močno vpliva tudi lastništvo nad VNS in dokazano je, da proces prenosa lastništva VNS z države na lokalno skupnost, zasebna podjetja ali uporabnike sistema lahko pozitivno vpliva na tehnično učinkovitost delovanja namakalnega sistema (Garces-Restrepo in sod., 2007; Kukul in sod., 2008; Nkhoma in Mulwafu, 2004). Prenos lastništva namakalnega sistema (angl. *irrigation management transfer*) kot orodje za reformo namakalnega sektorja uporabljajo v kar 60 državah po svetu. Prvo uporabo izraza lahko zasledimo v letu 1970, medtem ko se je njegova širša uporaba začela v 90. letih prejšnjega stoletja, ko so se vlade soočile z resnim pomanjkanjem sredstev za vzdrževanje obstoječih VNS (Garces-Restrepo in sod., 2007).

A kot izpostavlja Burton (2010), je pri vsem tem je enako pomembno predvsem troje: (a) znanje pridelovalca, ki ga mora podpirati svetovalna služba in raziskovalci, (b) tehnična podpora upravljavcev namakalnih sistemov, ki jo morajo dopolnjevati svetovalna služba in raziskovalci in (c) dostopnost finančnih sredstev za investicije v namakanje.

3 MATERIALI IN METODE DE LA

Za predstavitev razvoja VNS v Sloveniji v obdobju 2007-2013 smo uporabili podatke Ministrstva za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano Republike Slovenije (MKGP, 2015). Primerjali smo površine podprtih projektov namakanj glede na zaprosena in dodeljena sredstva ter razliko med njimi. Analizirali smo odstotek dodeljenih sredstev od zaprosenih in tako analizirali uspešnost investitorjev. Analizirali smo, kdo so investitorji in kakšen je pomen posameznih investitorjev pri razvoju in posodobitvah VNS v obdobju 2007-2013. Analizirali smo osnutek Načrta razvoja namakanja in rabe vode za namakanje v kmetijstvu z vidika lokalnih potreb in globalnih trendov razvoja namakanja. Stanje razvoja namakanja v Sloveniji smo s pomočjo preučite primerov primerjali s trendi iz tujine.

4 REZULTATI Z DISKUSIJO

V Sloveniji lahko razmejimo dve obdobji razvoja VNS. Prvo je nastopilo po II. svetovni vojni v obdobju po 1965. V obdobju 1965-2000 je bilo v Sloveniji razvitih približno 7000 ha VNS. Po tem obdobju se je razvoj VNS v Sloveniji upočasnil, kar je skladno z globalnim trendom razvoja namakanja (Plusquellec, 2002). V sredini devetdesetih je zaradi spremembe zakonodaje in začetkov prilagajanj le-te na vstop v Evropsko unijo prišlo do zatišja. Vlaganje v namakalne sisteme se je zaradi pomanjkanja javnih sredstev zato ustavilo. Financiranje za razvoj namakanja je bilo ponovno na voljo v obdobju 2007-2013 s podporo Programa razvoja podeželja (PRP) 2007-2013. Javno financiranje razvoja VNS se je ponovno izvedlo v obdobju 2007-2013. Vsaka od investicij v VNS izvedena v obdobju 2007-2013, je zelo pomembna, saj naj bi prihodnja raba VNS imela pozitivne učinke v več rastlinsko-pridelovalnih panogah. Novogradnje v Posavju bodo okrepile sadjarsko in vrtnarsko pridelavo, medtem ko bodo

namakalni sistemi v Pomurju in Podravju poleg vrtnarske pridelave podpirali tudi poljedelsko pridelavo. Obnovljeni namakalni sistemi na območju občine Braslovče so namenjeni tako hmeljarstvu kot poljedelski in vrtnarski pridelavi in naj bi prispevali k zmanjšani porabi vode in energije (CRP, 2013).

Projekte VNS, financirane v okviru PRP 2007-2013, delimo na nove namakalne sisteme (novogradnje) in posodobitve namakalnih sistemov (posodobitve) (preglednica 1). Podprtih je bilo sedem projektov novogradenj na skupni površini 1753,4 ha kar predstavlja 25 % povečanje površine VNS v Sloveniji v primerjavi z obdobjem 1965-2000. Slovenija je od 1990 do leta 1998 dosegla približno 57 % povečanje površine novih VNS, kar je več kot v istem obdobju na ravni Evrope (3 %), Azije (16 %) in Sveta (11 %) (Plusquellec, 2002). Razvoj novih VNS je bil, v primerjavi s trendi po svetu torej zelo intenziven. Novogradnje so bile izvedene na območju občin Sevnica (en projekt), Krško (en projekt), Gorišnica (dva projekta), Ormož (en projekt) in Murska Sobota (dva projekta). V obdobju 2007-2013 sta bila podprta dva projekta posodobitve VNS na skupni površini 396,0 ha, ki so bile izvedene na območju občine Braslovče. Posodobitve so v obdobju 2007-2013 obsegale 18 % površine podprtih projektov, novogradnje pa 82 % podprtih projektov (preglednica 1). Pogoji za pridobitev sredstev za posodobitev namakalnih sistemov je bilo doseganje manjše porabe vode in energije in ne le zamenjava nedelujočih delov, kar so podprti projekti tudi izkazali.

Investitorji so bili pri porabi javnih sredstev za VNS bolj nagnjeni k investicijam v nove VNS kot posodobitvam obstoječih VNS, kar je obratno od globalnega trenda (Schultz in De Wrachien, 2002; Turrall in sod., 2010; Burt, 2013). Cvejić in sod. (2013) ugotavljajo, da so posodobitve VNS v obdobju 2007-2013 obsegale posodobitve črpališča (prehod na uporabo električnih namesto dizelskih črpalk, uvedba frekvenčnih pretvornikov), namestitev vodomerov (spremljanje porabe količine vode in/ali hranil) in prehod z bobenskih namakalnikov na kapljično namakanje (vodovarčnejše tehnologije namakanja). Bobnasti namakalniki se na območju posodobljenih namakalnih sistemov sicer še uporabljajo, a v manjši meri kot pred posodobitvijo. A skromen obseg posodobitev še ne pomeni, da obstoječi VNS v Sloveniji delujejo brez težav. Primerjalna presoja površin VNS, na katerih poteka namakanje, je pokazala, da je bilo v letu 2011 v rabi le 35 % VNS in da povprečna izkoriščenost podeljene vodne pravice ni bila višja od 15 % (CRP, 2013). Raba preučenihi VNS v Sloveniji je torej pod potenciali, pri čemer Slovenija ni izjema, saj se tudi drugod po svetu srečujejo s problemom degradacije in slabega delovanja obstoječih VNS (Borgia in sod., 2013; Burt, 2013).

Raziskava Cvejić in sod. (2013) izkazuje, da so razlogi za slabo izkoriščenost obstoječih VNS izjemno raznoliki. Na nekaterih VNS je vzrok nizke izkoriščenosti slaba povezanost pridelovalcev s trgom. Ostarelost pridelovalcev in opuščanje pridelave na nekaterih VNS zmanjšuje število uporabnikov VNS, kar povečuje stroške delovanja VNS. Zaradi povečanih stroškov delovanja VNS si preostali pridelovalci uredijo nova črpališča in rabijo vodo iz vodnih virov individualno, nepovezano z obstoječim VNS. Na nekaterih VNS so vzrok nizke izkoriščenosti slabo delovanje ali okvare črpališč, poškodbe na cevovodih, zamuljenost vodnega vira, neustrezna kakovost vode iz vodnega vira, poškodbe na vodni infrastrukturi (npr. poškodbe na pregradi zadrževalnika). Velik del nezadovoljstva pri uporabnikih VNS predstavlja slaba organiziranost rabe VNS, slaba obveščenost o času dostave vode na

posameznih sektorjih VNS, slabo vedenje o potrebah rastlin po vodi, o možnih načinih namakanja ter neurejeno lastništvo sistema.

To vse nakazuje, da ukrepi za doseganje polnejše rabe VNS v obdobju 2014-2020 ne bi smeli biti samo tehnični (zamenjava črpališča, cevovoda, ipd.), ampak da je treba več pozornosti nameniti tehnološkemu vprašanju (svetovanje o načinu namakanja glede na kulture in tehnologijo), sledenju rabe vode, organizacijskim vprašanjem (kdaj in koliko ima kdo vode na voljo, kako je o tem obveščen) in izobraževanju uporabnikov namakalnih sistemov in upravljalcev namakalnih sistemov. Tak pristop je skladen s priporočili Burt (2013) ter Schultz in De Wrachien (2002). To je prepoznano tudi v Programu razvoja podeželja 2014-2020 (PRP, 2015), ki je predvidoma večinski finančni vir javnih investicij v VNS za obdobje 2014-2020, ter v osnutku Načrta razvoja namakanja in rabe vode za namakanje kmetijskih zemljišč (NRN) za obdobje 2014-2020, ki je tretje obdobje javnega financiranja razvoja VNS v Sloveniji.

Poleg ukrepov za razvoj novih VNS, NRN 2014-2020 zajema ukrepe za izboljšanje znanja pridelovalcev in kmetijskih svetovalcev s področja strokovnega namakanja ter daje podporo razvoju demonstracijske službe za strokovno pravilno namakanje. Poleg tega je prepoznana potreba po ureditvi lastniškega stanja VNS in posodobitev baz VNS, s čimer se posredno vzpodbuja prenos lastništva na uporabnike namakalnih sistemov, ki je po svetu pogosto uporabljen pristop, katerega učinek naj bi bili namakalni sistemi, ki bodo bolj vzdrževani in uporabljeni kot danes. Država še naprej ne nastopa kot investitor v namakalne sisteme, ampak zgolj kot subjekt, ki skrbi za dodelitev javnih sredstev investitorjem. Vlogo investitorstva – priprave projektov razvoja in posodobitev VNS – prepušča iniciativi lokalnih skupnosti, zasebnih podjetij in drugih zainteresiranih.

Ukrep NRN tehnološke posodobitve obstoječih NS je v PRP 2014-2020 podprt v okviru operacij Tehnološke posodobitve VNS in Naložbe za izboljšanje splošne učinkovitosti in trajnosti kmetijskih gospodarstev, zajetih v podukrepu 4.3 – Podpora za naložbe v infrastrukturo, povezano z razvojem, posodabljanjem ali prilagoditvijo kmetijstva in gozdarstva, znotraj ukrepa M4 – Naložbe v osnovna sredstva. Ta ukrep NRN naj bi prispeval k tehnološkim posodobitvam VNS in nabavi sodobnejše namakalne opreme, kar bo prispevalo k zmanjšanju porabe vode in energije na obstoječih VNS in k zmanjšanju negativnih vplivov kmetijstva na stanje površinskih in podzemnih voda.

Ukrep NRN organizacija izobraževanja o namakanju je v PRP 2014-2020 podprt v okviru operacije Okolje in podnebne spremembe, zajete v podukrepih 16.1 – Podpora za ustanovitev in delovanje operativnih skupin evropskega partnerstva za inovacije na področju kmetijske produktivnosti in trajnosti in 16.5 – Podpora za skupno ukrepanje za blaženje podnebnih sprememb ali prilagajanje nanje ter za skupne pristope k okoljskim projektom in stalnim okoljskim praksam, znotraj ukrepa 16 – Sodelovanje. Ta ukrep naj bi prispeval k dvigu znanja kmetijskih svetovalcev in pridelovalcev o strokovno pravilnem namakanju.

Ukrepa NRN postavitev demonstracijske službe za strokovno pravilno namakanje in postavitev službe za napoved namakanja sta v PRP 2014-2020 podprta v okviru operacije Podpora za demonstracijske aktivnosti in ukrepe informiranja, zajete v podukrepu 1.2 – Podpora za demonstracijske aktivnosti in ukrepe informiranja, znotraj ukrepa 1 – Prenos

znanja in dejavnosti informiranja. Ta ukrep NRN naj bi prispeval k izvedbi demonstracijskih projektov, namenjenih prikazu praktične uporabe namakalne opreme in prispeval k natančnejšemu poznavanju potreb rastlin po vodi za natančnejše dodajanje vode in tako pripomogel k boljšemu in učinkovitejšemu delovanju VNS.

Ukrep NRN ureditev evidenc in povečanje izkoriščenosti obstoječih NS presega PRP 2014-2020 in je načrtovan kot del rednih nalog ministrstva, pristojnega za kmetijstvo. Ta ukrep zajema izboljšanje in ureditev podatkov katastra melioracijskih sistemov in naprav (KatMeSiNa) ter ureditev lastništva nad VNS. KatMeSiNa kot edini informacijski sistem o namakalnih sistemih v Sloveniji namreč v veliko primerih ne odraža dejanskega stanja namakalnih sistemov na terenu in je pomanjkljiva podatkovna baza. Poleg tega KatMeSiNa ni avtomatsko povezljiv z drugimi bazami, povezanimi s stanjem rabe namakalnih sistemov, kot so na primer evidenca podeljenih vodnih pravic ali evidenca vodnih povračil. To otežuje spremljanje učinkovitosti rabe namakalnih sistemov.

Navedeni ukrepi ne bodo koristili samo obstoječim uporabnikom VNS. V obdobju 2014-2020 je načrtovano nadaljevanje razvoja novih VNS, pri čemer bodo ukrepi organiziranja izobraževanj o namakanju ter vzpostavitve demonstracijske službe, skupaj z ukrepom NRN Ureditve postopkov za gradnjo VNS pripomogli k razvoju novih VNS in hkratnemu povečanju znanja s področja namakanja pri bodočih uporabnikih novih VNS.

Obstoječi VNS v Sloveniji so ali zasebni (53 %), v lasti lokalnih samouprav (24 %) ali v lasti države (23 %). Zasebni VNS v splošnem kažejo boljše stanje črpališča, posodobitve (financirane z lastnimi sredstvi lastnikov) so pogostejše, uporabniki spremljajo porabo vode in se zanimajo za uporabo sistemov za podporo odločanja o namakanju (CRP 2013; Cvejić in sod., 2013). Nasprotno, državni sistemi pogosto izkazujejo nedelovanje črpališč, poškodbe na cevovodih, zamuljenost vodnega vira, slabo organizirane namakalne skupnosti in nepoznavanje in neupoštevanje urnika namakanj. Torej znanje o delovanju VNS je pri uporabnikih, ki so lastniki sistema, boljše kot pri uporabnikih, ki niso lastniki sistema, iz česar sledi, da na učinkovitost rabe VNS vpliva tudi lastništvo nad VNS. Čeprav prenos lastništva ni edina rešitev, izkušnje iz tujine (Garces-Restrepo in sod., 2007; Kukul in sod., 2008; Nkhoma in Mulwafu., 2004) kažejo, da proces prenosa lastništva lahko pozitivno vpliva na tehnično učinkovitost delovanja namakalnega sistema. Vendar avtorji opozarjajo, da mora biti ta proces strokovno voden, premišljen in mora vključevati uporabnike. V nasprotnih primerih lahko pride do tehničnih napak pri posodobitvah oziroma se v procesu prenosa lastništva ne doseže dovolj veliko znanje uporabnikov, ki bi vodilo v izboljšano delovanje VNS po prenosu lastništva.

Za VNS projekte je bilo v obdobju 2007-2013 skupaj zaprosenih 13,20 mio EUR in dodeljenih 11,54 mio EUR. Za novogradnje je bilo zaprosenih 12,20 mio EUR in dodeljenih 10,6 mio EUR. Za posodobitve je bilo zaprosenih 1 mio EUR in dodeljenih 0,95 mio EUR. V obdobju 2007-2013 je bilo v razvoj namakanja največ sredstev vloženih na območju občin Gorišnica, Beltinci in Murska Sobota, kjer so bile tudi investicije v namakanje po površini najboljše. Primerjalno gledano so bile investicije na območju občin Sevnica (81 ha) in Krško (155 ha) toliko manj obsežne, da se je to odrazilo tudi na skupni vsoti dodeljenih sredstev, ki ne presega 1,2 mio EUR na območje. Investicije v novogradnje na območju Pomurja in Podravja so znašale med 1,2 in 2,5 mio EUR, ter so zaradi večjega obsega dražje

od investicij v Posavju. Investicije v posodobitve skupaj niso presegle vrednosti 0,95 mio EUR.

Na vrednost investicije na hektar vplivajo različni dejavniki, npr. razgibanost terena, tehničnih posebnosti namakalnega sistema, obstoj določene infrastrukture, npr. črpališča in povezave med projekti namakanja oz. faznost projektov. Investicije za novogradnje so bile 3342-10988 EUR/ha, v povprečju 7034 EUR/ha, investicije za obnove so bile 2399-5484 EUR/ha.

Preglednica 2: Pregled projektov namakanja podprtih skozi Program razvoj podeželja v obdobju 2007-2013

Table 1: Overview of the irrigation projects financed within the Rural development programme 2007-2013

Tip investicije, občina investicije in investicija	Površina		Zaprošena sredstva		Dodeljena sredstva		Razlika med zaprošenimi in dodeljenimi sredstvi		
	HA	%	mio EUR	EUR/ha	mio EUR	EUR/ha	EUR/ha	%	
NOVOGRADNJE									
BELTINCI									
N-VNS4	301,0	17,2	2,5	8140	2,33	7741	398,7	95	
GORIŠNICA									
N-VNS1, N-VNS2	308,0	17,6	2,5	7955	2,17	7045	909,1	94	
KRŠKO									
N-VNS3	155,0	8,8	1,3	8065	1,18	7613	451,6	94	
MURSKA SOBOTA									
N-VNS5	459,5	26,2	2,7	5854	2,52	5484	370,0	94	
ORMOŽ									
N-VNS6	448,9	25,6	1,5	3342	1,5	3342	0,0	100	
SEVNICA									
N-VNS7	81,0	4,6	1,9	22963	0,89	10988	11975,3	48	
SKUPAJ	1753,4	82	12,2		10,6				
POVPREČJE				9386		7035		88	
POSODOBITVE									
BRASLOVČE									
O-VNS1, O-VNS2	396,0		1,0	2525	0,95	2399	126,3	95	
SKUPAJ	396,0	18	1,0	2525	0,95	2399	126,3	95	

Uporabljene oznake namakalnih sistemov: N-VNS1 (Namakalni sistem Gorišnica - Moškanjci I. faza-izgradnja), N-VNS2 (Namakalni sistem Gorišnica-Moškanjci Dokončanje I. faze), N-VNS3 (Izgradnja namakalnega sistema Kalce-Naklo II. faza), N-VNS4 (Namakalni sistem Nemščak-Beltinci), N-VNS5 (Namakalni sistem RAKIČAN-MUZGE), N-VNS6 (Namakalni sistem Ormož - Velika Nedelja - izgradnja), N-VNS7 (Namakalni sistem Blanca), O-VNS1 (Veliki namakalni sistem Letuš-posodobitev), O-VNS2 (Veliki namakalni sistem Šmatevž- posodobitev)

Globalno gledano so bile za razvoj namakalnih sistemov običajno odgovorne vlade, ki so sektor podpirale skozi načrtovanje, projektiranje in izgradnjo projektov namakanja. Trendi, ki so vodili v decentralizacijo načrtovanja namakalnih sistemov in večje moči zasebnega sektorja, so povzročili, da je država odgovornost do razvoja namakanja do določene mere prepustila organizacijam uporabnikov in zasebnemu sektorju (Tollefson in sod., 2014; Hargreaves, 2003). Ta trend se kaže tudi v Sloveniji.

Država ne nastopa kot investitor v namakalne sisteme, ampak zgolj kot subjekt, ki skrbi za dodelitev javnih sredstev investitorjem. Vlogo investitorstva – kot imenujemo pripravo projektov razvoja in posodobitev VNS – prepušča iniciativi lokalnih skupnosti, zasebnih podjetij in drugih zainteresiranih. Enak način financiranja se ohranja tudi v obdobju 2014-2020.

V obdobju 2007-2013 so bile lokalne samouprave enako pomembne za razvoj novih velikih namakalnih sistemov kot zasebna podjetja. Občine so omogočile razvoj 911,9 ha novih namakalnih sistemov, za kar je bilo dodeljenih 2766,0 EUR/ha sredstev. Zasebna podjetja so omogočila razvoj 841,5 ha novih namakalnih sistemov, za kar je bilo dodeljenih 6821 EUR/ha sredstev. Za razvoj so občine pridobile 4,9 mio EUR, zasebna podjetja pa 5,7 mio EUR. Pri posodobitvi velikih namakalnih sistemov je ključno vlogo odigrala ena zadruga, ki ji je bilo dodeljeno 0,95 mio EUR. Država oz. PRP 2007-2013 je vir javnih sredstev v VNS, a se ne pojavlja kot neposredni porabnik (investitor) v namakalne sisteme. V splošnem so bili investitorji pri pripravi projektov in pridobivanju sredstev zelo uspešni, saj so v povprečju pridobili 88,6 % sredstev od zaprosenih, večina investitorjev je uspela pridobiti več kot 93 % zaprosenih sredstev (MKGP, 2015). Raziskava CRP (2013) je pokazala, da investitorji, še zlasti v prvi polovici obdobja PRP 2007-2013, niso dovolj natančno preučili seznama upravičenih stroškov investicije, zaradi česar je prihajalo do razlik med zaprosenimi in dodeljenimi sredstvi.

5 SKLEPI

Razvoj novih VNS v obdobju 1965-2000 je bil v Sloveniji torej bolj intenziven kot drugje po svetu. Po letu 2000 se prekinil in ponovno stekel v obdobju 2007-2013. Medtem se je drugje po svetu razvoj VNS upočasnil in, kar ne velja za Slovenijo, preusmeril v posodobitve. V obdobju 2007-2013 je PRP 2007-2013 financiral izgradnjo devetih projektov namakanja, od tega sedem novogradenj na skupni površini 1753,4 ha in dve posodobitvi na skupni površini 396,0 ha. Prevladovale so investicije v novogradnje, torej drugače od trenda po svetu, kjer je prevladoval trend posodobitev VNS.

Čeprav so se posodobitve v obdobju 2007-2013 v Sloveniji izvajale v manjši meri kot novogradnje, je bil interes ministrstva, pristojnega za kmetijstvo, vseeno usmerjen v financiranje raziskav, ki bi pokazale, kakšno je stanje obstoječih VNS. Ocenjena je bila stopnja izkoriščenosti namakalnih sistemov, ki je pokazala, da je raven rabe VNS v Sloveniji močno pod njihovo načrtovano zmožnostjo. V obdobju 2014-2020 so ukrepi razvoja namakanja v Sloveniji še vedno usmerjeni v gradnjo novih VNS, a je prepoznan tudi pomen učinkovitosti delovanja obstoječih VNS zaradi česar sklepamo, da Slovenija stopa v korak z globalnim trendom.

NRN 2014-2020 poleg ukrepov za razvoj novih VNS zajema ukrepe za izboljšanje delovanja obstoječih VNS, znanja na področju strokovno pravičnega namakanja, ureditev lastniškega stanja VNS in posodobitev baz VNS. V obdobju 2014-2020 bo način financiranja VNS ostal enak kot v obdobju 2007-2013. Na podlagi primerjave z globalnim stanjem sklepamo, da Slovenija v obdobju 2014-2020 na področju ukrepov za doseganje polnejše rabe namakalnih sistemov in zviševanje znanja o strokovno pravilnem namakanju, vsaj v načrtih, sledi globalnemu trendu.

6 VIRI

- Boben J., Kramberger P., Petrovič N., Cankar K., Peterka M., Štrancar A., Ravnika M. Detection and quantification of Tomato mosaic virus in irrigation waters. *European Journal of Plant Pathology*. 2007; 118: 59-71.
- Borgia C., Garcia-Bolanos M., Li T., Gomez-Macpherson H., Comas J., Connor D., Mateos L. Benchmarking for performance assessment of small and large irrigation schemes along the Senegal Valley in Mauritania. *Agricultural water management*. 2013; 121: 19-26.
- Burt C.M. The irrigation sector shift from construction to modernization: what is required for success? *Irrigation and drainage*. 2013; 62: 247-254.
- Burton M. *Irrigation Management. Principles and Practices*. Cabi, Wallingford. 2010: 375.
- Ceglar A., Kajfež-Bogataj L. Simulation of maize yield in current and changed climatic conditions: Addressing modelling uncertainties and the importance of bias correction in climate model simulations. *European Journal of Agronomy*. 2012; 37: 83-95.
- Cvejić R., Tratnik M., Meljo J., Bizjak A., Prešeren T., Kompare K., Steinman F., Mezga K., Urbanc J., Pintar M. Trajno varovana kmetijska zemljišča in bližina vodnih virov, primernih za namakanje. *Geodetski vestnik*. 2012; 56: 308-324.
- Cvejić R., Tratnik M., Pintar M. V: *Mišičev vodarski dan 2013*. Raba velikih namakalnih sistemov ter potrebe po celostnih posodobitvah. Maribor, Slovenija: Vodnogospodarski biro Maribor; 2013: 149-157.
- de Fraiture C., Giordano M. Small private irrigation: A thriving but overlooked sector. *Agricultural Water Management*. 2014; 131: 167-174.
- de Luis M., Novak K., Raventos J., Gričar J., Prislán P., Čufar K. Cambial activity, wood formation and sapling survival of *Pinus halepensis* exposed to different irrigation regimes. *Forest Ecology and Management*. 2011; 262: 1630-1638.
- Elliot C., Udovč A. Nature conservation and spatial planning in Slovenia: continuity in transition. *Land Use Policy*. 2005; 22: 265-276.
- Erjavec E., Rednak M., Volk T. The European Union enlargement – the case of agriculture in Slovenia. *Food Policy*. 1998; 23: 395-409.
- FAO. *Crops and drops. Making the best use of water for agriculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 2002: 28.
- Gabrovšek F., Knez M., Kogovšek J., Mihevc A., Mulec J., Perne M., Petrič M., Pipan T., Prelovšek M., Slabe T., Šebela S., Ravbar N. Development challenges in karst regions: sustainable land use planning in the karst of Slovenia. *Carbonates and Evaporites*. 2011; 26: 365-380.
- Garces-Restrepo C., Vermillion D., Munoz G.. *Irrigation management transfer: Worldwide efforts and results*. FAO Water reports 32. FAO, Rome. 2007: 68.
- Glavan M., Cvejić R., Tratnik M., Pintar M. Geospatial Analysis of Water Resources for Sustainable Agricultural Water Use in Slovenia. V: Bradley P.M., ur. *Current Perspectives in Contaminant Hydrology and Water Resources Sustainability*. Rijeka, Croatia; 2013: 200-219.
- Growing J. A review of experience with aquaculture integration in large-scale irrigation systems. V: Halwart M., van Dam A.A., ur. *Integrated irrigation and aquaculture in West Africa: Concepts, practices and potential*. FAO, Rome; 2006: 181.

- Hargreaves G.H. Lessons from success and/or failures of irrigation development. *Irrigation and drainage*. 2003; 52: 31-38.
- Hussain I., Hanjara M. A. Irrigation and poverty alleviation: review of the empirical evidence. *Irrigation and drainage*. 2004; 53: 1-15.
- Justin Zupancic M., Pajk N., Zupanc V., Zupancic M. Phytoremediation of landfill leachate and compost wastewater by irrigation of *Populus* and *Salix*: *Biomass and growth response*. *Waste Management*. 2010; 30: 1032-1042.
- Kukul Y.S., Akcay S., Anac S., Yesilirmak E. Temporal irrigation performance assessment in Turkey: Menemen case study. *Agricultural water management*. 2008; 95: 1090-1098.
- Mehle N., Ravnika M. Plant viruses in aqueous environment – Survival, water mediated transmission and detection. *Water Research*. 2012; 46: 4902-4917.
- MKGP. *Podatki o investicijah v velike namakalne sisteme v okviru Programa razvoja podeželja 2007-2013*. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano Republike Slovenije, Ljubljana. 2015.
- Naglič B., Kechavarzi C., Coulon F., Pintar M. Numerical investigation of the influence of texture, surface drip emitter discharge rate and initial soil moisture condition on wetting pattern size. *Irrigation science*. 2014; 32: 421-436.
- Nkhoma B., Mulwafu W.O. The experience of irrigation management transfer in two irrigation schemes in Malawi, 1960s–2002. *Physics and Chemistry of the Earth*. 2004; 29: 1327-1333.
- Perry C.J. The IWMI water resources paradigm – definitions and implications. *Agricultural water management*. 1999; 40: 45-50.
- Predlog ZKZ. *Zakon o spremembah in dopolnitvah zakona o kmetijskih zemljiščih (ZKZ-E)*. 2015.
- CRP. *Trajnostna raba vode z krepitvijo rastlinskega pridelovalnega potenciala v Sloveniji*. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano Republike Slovenije, Ljubljana. 2013: 181.
- CRP. *Ocena vodnih perspektiv na območju Slovenije in možnosti rabe vode v kmetijski pridelavi*. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano Republike Slovenije, Ljubljana. 2010: 158.
- CRP. *Projekcija vodnih količin za namakanje v Sloveniji*. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano Republike Slovenije, Ljubljana. 2012: 179.
- Pintar M., Knapič M. Nitrate leaching in hop production. *Fresenius environmental bulletin*. 1998; 7: 590-595.
- Playan E., Mateos L. Modernization and optimization of irrigation systems to increase water productivity. *Agricultural water management*. 2006; 80: 100-116.
- Plusquellec H. Is the daunting challenge of irrigation achievable. *Irrigation and drainage*. 2002; 51: 185-198.
- Podgornik M., Pintar., Korpar P., Tomažič I., Arbeiter A., Klančar U., Bandelj Mavsar D. Vpliv deficitnega namakanja na pridelek oljk (*Olea europea* L.) sorte 'Istrska belica'. *Novi raziskovalni pristopi v oljkarstvu*. Univerzitetna založba Annales. 2012: 87-93.
- Podgornik M., Bandelj D. deficitni princip namakanja oljčnih nasadov v Slovenski Istri. *Acta agriculturae Slovenica*. 2015; 105: 337-344.
- PRP. *Program razvoja podeželja Republike Slovenije*. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano Republike Slovenije, Ljubljana. 2015: 825.
- Schultz B., De Wrachien D. Irrigation and drainage systems research and development in the 21st century. *Irrigation and drainage*. 2002; 51: 311-327.
- Schultz B., Thatte C.D., Labhsetwar V.K. Irrigation and drainage. Main contributors to global food production. *Irrigation and drainage*. 2005; 54: 263-278.
- Simončič A., Knapič M. The influence of different irrigation and fertilisation systems on weed development and hop yield. *Hmeljarski bilten*. 2004; 11: 5-15.
- Soto-Garcia M., Martinez-Alvarez V., Garcia-Bastida P.A., Alcon F., Martin-Gorriiz B. Effect of water scarcity and modernisation on the performance of irrigation districts in south-east Spain. *Agricultural water management*. 2013; 124: 11-19.
- Šircelj H., Tausz M., Grill D., Batič F. Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. *Scientia Horticulturae*. 2007; 113: 362-369.

- Šturm M., Kacjan-Maršič N., Zupanc V., Bračič-Železnik B., Lojen S., Pintar M. Effect of different fertilisation and irrigation practices on yield, nitrogen uptake and fertiliser use efficiency of white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.). *Scientia Horticulturae*. 2010; 125: 103-109.
- Tarjuelo J. M., Rodriguez-Diaz J. A., Abadia R., Camacho E., Rocamora C., Moreno M. A. Efficient water and energy use in irrigation modernization: Lessons from Spanish case studies. *Agricultural water management*. 2015; 162: 67-77.
- Tollefson L., El Atfy H., Facon T. Policy, science and society interaction. *Irrigation and drainage*. 2014; 63: 158-175.
- Turrall H., Svendsen M., Marc Faures J. Investigating in irrigation: Reviewing the past and looking to the future. *Agricultural water management*. 2010; 97: 551-560.
- Uhan J., Vižintin G., Pezdič J. Groundwater nitrate vulnerability assessment in alluvial aquifer using process-based models and weights-of-evidence method: Lower Savinja Valley case study (Slovenia). *Environmental Earth Sciences*. 2011; 62: 97-105.
- Zhang Q. T., Xia Q., Liu C. C. K., Geng S. Technologies for efficient use of irrigation water and energy in China. *Journal of integrative agriculture*. 2013; 12: 1363-1370.
- ZKZ. Zakon o kmetijskih zemljiščih (ZKZ-UPB2). 2011.
- Zupanc V., Justin Zupančič M. Changes in soil characteristics during landfill leachate irrigation of *Populus deltoides*. *Waste Management*. 2010; 30: 2130-2136.
- Zupanc V., Šturm M., Lojen S., Kacjan-Maršič N., Adu-Gyamfi J., Bračič-Železnik B., Urbanc J., Pintar M. Nitrate leaching under vegetable field above a shallow aquifer in Slovenia. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 2011; 144: 167-174.

VPLIV UPORABE PRIPRAVKOV ZA KREPITEV RASTLIN NA RAST IN RAZVOJ SADIK RAZLIČNIH ZELIŠČ

Nataša FERANT²³ in Barbara ČEH²⁴

Izvirni znanstveni članek / original scientific article

Prispelo / received: 12. oktober 2015

Sprejeto / accepted: 7. december 2015

Izvleček

V poskusu smo ugotavljali vpliv uporabe pripravkov za krepitev rastlin na kakovost sadik zelišč. Vključili smo pet zelišč, po katerih je večje povpraševanje: citronko (*Lippia citriodora* Kunth), ožepok (*Hyssopus officinalis* L.), stevijo (*Stevia rebaudiana* Bertoni), žajbelj (*Salvia officinalis* L.) in njivsko arniko (*Arnica chamissonis* Less.). Uporabili smo dva komercialna pripravka (pripravek 1 iz ekstrakta koprive in vrbe ter olja oljne ogrščice - Plantonic in pripravek 2 iz organskega dušika, učinkovitih mikroorganizmov, azotobakterij, melase, česna, čilija, vinskega kisa, vode in alkohola - EM). Tako s pripravkom 1 kot s pripravkom 2 smo rastline poškropili po listih z 1 % koncentracijo, da so bili dobro omočeni, in sicer 15. 7., 23. 7., 14. 8. in 2. 9. 2015. Vsa ostala oskrba je bila enaka za vsa obravnavanja; zalivali smo ročno, po potrebi, gnojenja nismo izvajali. Pri kontroli nismo uporabili nobenega pripravka. Ocenjevanje je potekalo po 2 mesecih. Uporaba pripravka 1 je značilno pozitivno vplivala na prekoreninjenost koreninske grude in pozitivno na preživetje sadik preučevanih zelišč, na njihovo višino pa ni imela značilnega vpliva. Na koreninsko grudo pripravek 2, uporabljen po opisanem protokolu, ni imel značilnega vpliva, višina zelišč je bila manjša v primerjavi s kontrolo, je pa pozitivno vplivala na preživetje sadik.

Ključne besede: zelišča / rast in razvoj / pripravki za krepitev rastlin / učinkoviti mikroorganizmi

THE IMPACT OF PLANT GROWTH PROMOTING PRODUCTS ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF SEEDLINGS OF VARIOUS HERBS

Abstract

We wanted to examine the impact of different growth promoting products on development of seedlings of different herbs: lemon verbena (*Lippia citriodora* Kunth), hyssop (*Hyssopus officinalis* L.), stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), sage (*Salvia officinalis* L.) and chamisso arnica (*Arnica chamissonis* Less.). Two different growth promoting products were tested: Product 1 from an extract of nettle and willow and rapeseed oil – Plantonic, and Product 2, which contains organic nitrogen, effective microorganisms, azotobacters, molasses, garlic, chilli, wine vinegar, water and alcohol - EM). With both products we sprayed leaves of the seedlings with a 1% concentration, until they were well-wetted, on 15th July, 23rd July, 14th August and 2nd September 2015. All other care was the same for all treatments; we watered manually, fertilization was not carried out. At the Control we did not use any of such products. The evaluation was done after 2 months. Product 1 had a significantly positive impact on the survival of seedlings and on the quantity of roots in the pots, but not on the seedlings height. Product 2, used in the described way, had a bit negative impact on the height of herbs, no significant impact on quantity of roots, but it had positive effect on the survival of seedlings.

Key words: herbs / growth and development / plant strengtheners / effective microorganisms

²³ Mag., IHPS, Cesta Žalskega tabora2 , 3310 Žalec, e-pošta: natasa.ferant@ihps.si

²⁴ Dr., prav tam, e-pošta: barbara.ceh@ihps.si

1 UVOD

Pridelovanje zelišč v primerjavi z nabiralništvom omogoča bolj zanesljiv vir oskrbe z zelišči znane kakovosti, poleg tega je nujno, saj lahko prekomerno nabiranje v naravi vodi do iztrebljanja določenih rastlinskih vrst (Baričevič in Kušar, 2006; Baričevič in sod., 2008). Leta 1994 so bile v Nacionalnem programu za proizvodnjo, predelavo in trženje rastlinskih drog v Republiki Sloveniji postavljene smernice za to področje (Baričevič in sod., 1994). Poudarjeno je, da je zasnova nasadov zdravih rastlin in preskrba pridelovalcev s kakovostnim semenskim in sadilnim materialom izrednega pomena, kakor tudi svetovanje o najprimernejših rastlinskih vrstah in najprimernejših tehnologijah glede na pridelovalno območje. Na tej podlagi sloni ustrezna kvaliteta pridelka - da lahko za pridelovalce zelišč in za industrijo (farmacevtsko in prehrabno) zagotovimo kakovostno domačo surovinsko bazo (Ferant, 2008 in 2010).

V poskusih na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) preizkušamo možnost pridelave zelišč v različnih razmerah (Wagner in sod., 1985; Ferant in Čeh, 2012 in 2014; Ferant in sod., 2013). Vsaka pridelava pa se začne z ustreznim semenom oziroma kakovostnimi sadikami. Pri vzgoji sadik želimo v čim krajšem času vzgojiti čim bolj vitalno sadiko, ki ima dobro razvit nadzemni del in korenine in je primerna za sajenje v nasad. V preteklosti je bilo pri nekaterih zeliščih kar nekaj problemov pri zagotavljanju optimalne sadike.

Mikroorganizmi so pomembni atributi v kmetijstvu za spodbujanje kroženja rastlinskih hranil (Muthaura, 2010). Veliko mikroorganizmov, na primer vrste *Bacillus* in *Pseudomonas*, imajo neposreden vpliv na rast rastlin (Kloepper in sod., 1986). Koncept učinkovitih mikroorganizmov (EM) je razvil profesor Teruo Higa na Japonskem (Higa, 1991). Pripravek EM je sestavljen iz mešanih kultur koristnih in sicer že v naravi prisotnih mikroorganizmov, in ga lahko uporabimo kot 'cepivo' za povečanje mikrobne raznolikosti tal; ideja temelji na inokulaciji tal z mešanimi kulturami koristnih mikroorganizmov, da bi ustvarili ugodnejše razmere za rast in zdravje rastlin (Olle in Williams, 2015). Mešanica lahko vključuje fotosintetske bakterije, laktobacile, kvas in aktinomicete (Olle in Williams, 2015). Raziskave so pokazale, da lahko z inokulacijo tal in rastlin z EM izboljšamo rodovitnost in 'zdravje' tal ter rast in pridelek rastlin, kakor tudi njihovo kakovost (Kengo in Hui-Lian, 2000). Rezultati raziskave v Keniji (Muthaura, 2010) so pokazali, da se rast in pridelek ščira, pri njih zelo pomembne avtohtone zelenjave, lahko izboljša z inokulacijo rastlin z EM. Olle in Williams (2015) sta v raziskavi potrdili pozitiven vpliv uporabe EM na rast sadik kumar in buč (le-te so imele značilno krajše in debelejše steblo) ter na vsebnost nitratov (ta je bila pri sadikah, pridelanih z uporabo EM, značilno manjša). EM sta uporabili za namakanje semen pred setvijo, z njimi je bil obogaten substrat, sadike so tudi zalivali vsak teden z vodno raztopino EM 1:500. Značilno pozitiven vpliv EM so avtorji potrdili tudi na kalitev semen, vigor in pridelek paradižnika (cit. po Olle in Williams, 2015).

Komercialni pripravek Plantonic bo na našem tržišču dostopen v letu 2016. Vsebuje ekstrakt koprive, vrbe in sončničnega olja. V poskusih proizvajalca se je pokazal z zelo ugodnim vplivom na rast in razvoj rastlin, zato smo ga želeli preizkusiti tudi v pridelavi sadik zelišč.

S predstavljenim poskusom smo želeli preizkusiti vpliv vključevanja omenjenih dveh rastnih stimulatorjev v pridelavo sadik različnih zelišč v smislu zagotavljanja večje kakovosti.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Vključena zelišča

V poskus smo vključili naslednja zelišča:

- citronko (*Lippia citriodora* Kunth),
- ožepka (*Hyssopus officinalis* L.),
- stevijo (*Stevia rebaudiana* Bertoni),
- žajbelj (*Salvia officinalis* L.) in
- njivsko arniko (*Arnica chamissonis* Less.).

Citronka je sredozemski grm, trajnica, ki pa je v celinskem podnebju neprezimen. Razmnožuje se s semenom ali potaknjenci. Zraste od 60 do 120 cm, v zmernem pasu v Sredozemlju tudi do 2 m. Ožepka je prezimno trden polzimzelen polgram, ki zraste od 45 cm do 120 cm. Razmnožuje se s semenom, potaknjenci ali z delitvijo koreninske grude. Gojimo ga na zelo sončni legi, na lahkih odcednih tleh. Stevija se razraste grmičasto; v višino zraste okoli 75 cm in širino 45 do 60 cm. Najbolje raste v rodovitnih in zračnih tleh. Kot trajnica raste v toplih krajih, v celinskem podnebju je neprezimna. Žajbelj je prezimno trden zimzelen grm, ki izvira iz Sredozemlja. Dobro uspeva na zelo sončnih legah ter na lahkih, suhih alkalnih in dobro odcednih tleh. Razmnožuje se z listi, potaknjenci ali delitvijo koreninske grude. Njivska arnika je prezimno trdna trajnica. Zraste od 20 do 30 cm. Listi tvorijo rozeto, ustrezajo ji peščena njivska tla. Od gorske arnike (*Arnica montana* L.) se razlikuje po zahtevah glede rastnih razmer: njivska arnika, ki je primernejša za pridelovanje, raste na njivskih tleh, gorska arnika pa uspeva na kislih tleh na višji nadmorski višini (Wagner, 1997).

Sadice citronke, ožepka, stevije in žajblja morajo imeti dobro razvit nadzemni del (okrog 5–10 cm), imeti grmičasto razrast in dobro prekoreninjeno koreninsko grudo. Sadice njivske arnike morajo imeti dobro razvit nadzemni del v obliki rozete z zdravim brstom in dobro prekoreninjeno koreninsko grudo.

2.2 Oskrba rastlin, obravnavanja

Poskus smo zastavili 15. julija 2015 v rastlinjaku na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije v Žalcu. Pri vseh rastlinah smo vzeli kot izhodni material ukoreninjene sejance oz. potaknjence, ki smo jih posadili v komercialni šotni substrat za presajanje (S25- Biotray+ Eco-mix 70l/45/ep – Gramoflor – ekološki substrat s hranili). Vključili smo tri različne načine pridelave: s pripravkom 1 (Plantonic), s pripravkom 2 (EM) in brez kakršnegakoli pripravka (preglednica 1). Vsako zelišče vsakega obravnavanja je bilo presajeno v stiroporni setveni plato z luknjicami (104). Tako s pripravkom 1 kot s pripravkom 2 smo rastline štirikrat poškropili po listih z 1 % koncentracijo, da so bili dobro omočeni, in sicer 15. 7., 23. 7., 14. 8. in 2. 9. 2015. Vsa ostala oskrba je bila enaka za vsa obravnavanja; zalivali smo ročno, po potrebi, gnojenja nismo izvajali.

Preglednica 1: Obravnavanja v poskusu**Table 1: Treatments in the experiment**

	Vsebina pripravka	Ime
Kontrola	-	-
Pripravek 1	Ekstrakt koprive, vrbe in sončničnega olja, stabilizator, emulgator; 50 % olja	Komercialen pripravek za krepitev rastlin in njihove odpornosti, dostopen pod imenom Plantonic
Pripravek 2	Organski dušik, učinkoviti mikroorganizmi, tudi azotobakterije, melasa, česen, čili, kis, voda ...	EM - komercialen pripravek, mikroben inokulant, namenjen za spodbujanje rasti rastlin in rodovitnosti tal

Poletna meseca julij – avgust 2015 je zaznamovala pogosta in dolgotrajna vročina. V Žalcu je bila povprečna dnevna temperatura zraka v obeh mesecih krepko višja od vrednosti dolgoletnega povprečja, julija 2015 za 3,7 °C in avgusta 2015 za 3,1 °C. Vse dekade so bile toplejše od vrednosti dolgoletnega povprečja. Med 23. julijem in 2. avgustom 2015 se je ohladilo (Agrometeorološka, 2015). V rastlinjaku ni bilo dodatnega ogrevanja, ohlajanja ali osvetljevanja. Temperature so bile v rastlinjaku čez dan od 3–5 °C višje kot zunanje, čez noč pa primerljive zunanjim. Zračenje je potekalo 24 ur z odpiranjem strešnih oken rastlinjaka.

2.3 Vrednotenje poskusa

Rast in razvoj sadik smo opazovali ves čas od postavitve poskusa in beležili opažanja. Poskus smo vrednotili 14. septembra 2015. Zabeležili smo odstotek propadlih rastlin, v nadaljevanju pa pri vsakem zelišču vsakega obravnavanja vrednotili prvih 20 nepropadlih zelišč v platuju. Izmerili smo dolžino poganjkov, prešteli število poganjkov pri vsaki posamezni rastlini ter ocenjevali prekoreninjenost koreninske grude: 1 = v grudi so redke korenine, 2 = v grudi je zunanji preplet korenine, 3 = korenine preraščajo celotno grudo. Podatke smo ovrednotili s programoma Excel in Statgraphic Centurium. Statistična analiza je potekala z analizo variance, razlike med obravnavanji smo zaznavali s Duncanovim testom mnogoterih primerjav ($p=0,05$).

3 REZULTATI**3.1 Opažanja**

Vizualno so se pozitivni učinki obeh pripravkov na rast zelišč najbolj izrazito pokazali v prvih 14 dneh. Kasneje so se razlike v izgledu sadik s kontrolo manjšale, kljub vsemu pa so še vedno bile zaznavne. Po dveh mesecih je bilo pri tretiranih rastlinah bistveno manj propadlih rastlin (pri kontroli 70 % propadlih rastlin, pri tretiranih rastlinah ne glede na pripravek 11 %). Rastline, tretirane pripravkom 2, so bile ves čas temneje zelene.

3.2 Višina rastlin in število poganjkov

Kot je razvidno iz preglednice 2, na višino zelišč pripravek 1 v primerjavi s kontrolo ni značilno vplival, pripravek 2 pa je deloval na povprečno višino vseh vključenih zelišč

značilno negativno. Interakcija zelišče x obravnavanje je bila značilna pri stopnji značilnosti 0,05.

Analiza podatkov po posameznih zeliščih je pokazala, da sta pri stevii oba pripravka pomenila izrazito - značilno manjšo višino rastlin v primerjavi s kontrolo. Na višino citronke je deloval pripravek 2 izrazito - značilno negativno. Pri njivski arniki se je dodatek pripravka 2 v primerjavi s kontrolo izrazil v značilno višjih rastlinah, dodatek pripravka 1 pa v še (značilno) višjih rastlinah. Pri ožepku in žajblju vključevanje pripravkov na višino rastlin ni značilno vplivalo.

Na število poganjkov pripravek ni imel značilnega vpliva (preglednica 2). Interakcija zelišče x obravnavanje ni bila značilna.

Preglednica 2: Višina rastlin, prekoreninjenost koreninske grude in število poganjkov v času vrednotenja 14. septembra 2015

Table 2: Plant height, roots development and number of sprouts in the time of evaluation on 14th Sept. 2015

		Višina rastlin (cm)	Koreninska gruda**	Št. poganjkov
Zelišče	žajbelj	15 b*	1,9 b*	-
	njivska arnika	9 a	1,3 a	-
	stevia	32 d	1,3 a	2,3 a
	ožepok	29 c	1,3 a	8,8 c
	citronka	49 e	1,9 b	6,6 b
Obravnavanje	Kontrola	28 b	1,4 a	5,8 a
	Pripravek 1	27 b	1,8 b	6,1 a
	Pripravek 2	25 a	1,4 a	6,1 a

*Enaka črka v stolpcu znotraj enega dejavnika (zelišče, obravnavanje) pomeni, da med njima razlika ni statistično značilna (Duncanov test mnogoterih primerjav, $p=0,05$).

**1 = v grudi so redke korenine, 2 = v grudi je zunanji preplet korenine, 3 = korenine preraščajo celotno grudo

3.3 Koreninska gruda

Žajbelj in citronka sta imela povprečno srednje veliko koreninsko grudo, njivska arnika, stevia in ožepok so imeli povprečno majhno koreninsko grudo. Zelišča, tretirana s pripravkom 1, so imela povprečno srednje veliko koreninsko grudo, zelišča pri kontroli in pri pripravku 2 pa so imela povprečno majhno koreninsko grudo.

Interakcija zelišče x obravnavanje je značilna. Na njivsko arniko in citronko je pripravek 1 deloval izrazito - značilno pozitivno. Pri žajblju in ožepku noben od pripravkov ni imel značilnega vpliva na ta parameter. Pri stevii se je dodajanje obeh pripravkov nakazalo v manjši koreninski grudi v primerjavi s kontrolo, vendar razlike nismo mogli dokazati (neznačilna). Na koreninsko grudo pri citronki in njivski arniki pripravek 2 ni imel značilnega vpliva.

4 DISKUSIJA S SKLEPI

Uporaba pripravka 1 po opisanem protokolu se je v poskusu pokazala kot smiselna za doseganje boljših sadik zelišč; na povprečno višino preučevanih zelišč skupaj pripravkov sicer ni imel značilnega vpliva, vendar pa je značilno pozitivno vplival na prekoreninjenost koreninske grude. Delo bomo nadaljevali z določevanjem morebitne še bolj ustrezne koncentracije in načina aplikacije, da bi se dosegel optimalen učinek na preučevana zelišča.

Pri steviji se je pokazalo, da sta oba pripravka pomenila izrazito - značilno manjšo višino rastlin v primerjavi s kontrolo ter manjšo koreninsko grudo, torej se je dodajanje obeh pripravkov po opisanem protokolu pokazalo kot neustrezno. Odmerek pripravka 1 je najverjetneje za stevio, pri kateri je razvoj sadike iz potaknjencev izredno počasen in slab (Nakamura in Tamura, 1985), prevelik. Po podatkih proizvajalca (ustni vir) se je enako namreč zgodilo v poskusu s porom, kjer je bil uporabljen dvojni odmerek. Priporočen odmerek pripravka 1 je sicer po navodilih za uporabo (v tisku) za poljščine na njivi 4–5 L/ha, učinkovitost 2–4 tedne.

Ker na višino zelišč in na koreninsko grudo pripravek 2 ni imel značilnega vpliva, je pa pozitivno deloval na preživetje sadik, bomo v prihodnje v poskus vključili večjo koncentracijo, in sicer 10 %, ki je sicer priporočena za pridelavo. Na višino citronke je deloval pripravek 2 sicer izrazito negativno, na koreninsko grudo pa ni imel značilnega vpliva - to bomo prav tako skušali razjasniti v nadaljevanju dela.

5 LITERATURA

- Agrometeorološka postaja Adcon Telemetry, tip postaje A 740, lokacija Žalec, 2015
- Baričević D., Kušar A. Zdravilne rastline v Evropi in Sloveniji-izziv raziskovalcem?. *Zbornik referatov '30 let Vrta zdravilnih in aromatičnih rastlin na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije'*. Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec. 2006; 13–21.
- Baričević D., Spanring J., Činč M., Umek A., Stupica T., Kus T., Šuštar F. Nacionalni program za proizvodnjo, predelavo in kontrolo kakovosti rastlinskih drog v Republiki Sloveniji-smernice. Biotehniška fakulteta v Ljubljani. 1994; 11 s.
- Baričević D., Vreš B., Seliškar A., Zupan T., Turk B., Gosar B. Zasnova sistema za identifikacijo okoljskih parametrov, pomembnih za pojavnost rastlinskih vrst v naravnih rastiščih in za ugotavljanje potencialnih lokacij za pridelovanje zdravilnih in aromatičnih rastlin. *Zbornik simpozija Novi izzivi v poljedelstvu*, Biotehniška fakulteta, Ljubljana. 2008; 250–256.
- Ferant N. Ali je sedaj pravi trenutek za razmah pridelave zdravilnih rastlin v Sloveniji? *Hmeljarski bilten*, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. 2008, 101–104.
- Ferant N. Kakšne so možnosti za povečanje pridelovanja zdravilnih rastlin v Sloveniji? *Zbornik simpozija Novi izzivi v poljedelstvu*, Slovensko agronomsko društvo, Ljubljana. 2010, 191–194.
- Ferant N., Čeh B. Vpliv rastišča na pridelek in vsebnost eteričnega olja pri žajblju (*Salvia officinalis* L.). *Hmeljarski bilten*, ISSN 0350-0756, 2014, 21; 85–92.
- Ferant N., Čeh B. Vpliv različnih rastišč na pridelek in kakovost nekaterih pomembnejših zdravilnih zelišč. V: Maček Jerala, M. (ur.), in sod. *Prenos inovacij, znanj in izkušenj v vsakdanjo rabo : zbornik referatov*. Naklo, Biotehniški center. 2012; 1–10.
- Ferant, N., Čeh B., Simonovska B. Pridelek navadnega volčjega jabolka (*Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino) v Sloveniji. *Hmeljarski bilten*, ISSN 0350-0756, 2013, 20; 48–55.
- Higa T. 1991. Effective microorganisms: A biotechnology for mankind. V: J.F. Parr, S.B. Hornick, in C.E. Whitman (ur.) *Proceedings of the First International Conference on Kyusei Nature Farming*. U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C., USA: 8-14.

- Kengo Y, Hui-lian X. 2000. Properties and applications of an organic fertilizer inoculated with effective microorganisms. *Journal of Crop production*, 3(1): 255-268.
- Kloepper JW, Lifshitz R, Schroth, MN. 1986. Pseudomonas inoculants to benefit plant production. *Anim. Plant Sci.*: 60-64.
- Margit Olle M., Williams I. The Influence of Effective Microorganisms on the Growth and Nitrate Content of Vegetable Transplants. 2015. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*, 2(1): 25-28.
- Muthaura C, Musyimi DM., Ogur JA, Okello SV. 2010. Effective microorganisms and their influence on growth and yield of pigweed (*Amaranthus dubians*). *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, 5(1): 17-22.
- Nakamura S, Takamura Y. 1985. Variation in the main glycoside of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Jpn J Trop Agric*, 29, 109-116.
- Wagner T. Pridelovanje zelišč. Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo. 1997; 192–194.
- Wagner T., Mastnak-Čulk C., Bratina B. Preizkušanje pridelovanja zdravilnih rastlin v hribovitih predelih občine Žalec, *Študija*, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, *Zaključno poročilo*. 1985; 37 s.

POSLOVNE PRILOŽNOSTI ZA EKOLOŠKO KMETIJSTVO V SLOVENIJI

Martin PAVLOVIČ²⁵, Tatjana DRINOVEC²⁶ in Karmen PAŽEK²⁷

Strokovni članek / professional article

Prispelo / received: 15. oktober 2015

Sprejeto / accepted: 16. november 2015

Izvleček

V slovenskih razmerah nudi ekološka pridelava primerno izhodišče za lokalno trajnostno oskrbo prebivalstva s hrano. Kupci ekoloških pridelkov in živil v Sloveniji dajejo prednost lokalno, regionalno ali nacionalno pridelanim in predelanim živilom. Prispevek predstavi podjetniško-zakonodajni vidik ekološkega kmetijstva v Sloveniji. Prikazane so tudi uveljavljene tržne poti prodaje ekoloških pridelkov in živil.

Ključne besede: ekološko kmetijstvo / trženje / Slovenija

BUSINESS OPPORTUNITIES FOR ORGANIC FARMING IN SLOVENIA

Abstract

In Slovenian situation an organic agriculture offers a convenient starting point for a local sustainable supply of the population with food. Buyers of organic products and foods in Slovenia give preference to local, regional or national grown and processed foods. The article presents business-legislative aspect of organic farming in Slovenia. Marketing channels of sales of organic products and food are discussed, as well.

Keywords: organic farming / marketing / Slovenia

1 PONUDBA EKOLOŠKIH ŽIVIL V REPUBLIKI SLOVENIJI

Ekološko kmetijstvo in predelava ekoloških živil sta eno najhitreje rastočih področij znotraj evropskega in svetovnega kmetijstva ter živilskopredelovalne industrije. Promet z ekološkimi živilmi in potrošnja ekoloških živil se iz leta v leto povečujeta. Ekološki kmetje, predelovalci, uvozniki in trgovci, certifikacijski organi in zakonodajalci nosijo veliko odgovornost zagotavljanja pristnosti ekološko pridelanim in označenim živilom (Bavec in sod., 2009). Razvoj segmenta ekoloških živil in ekološkega kmetijstva bi morala biti ena od razvojnih priložnosti za državo. Pripraviti bi morali strategijo razvoja ekološkega sektorja na nacionalni ravni, ki bi vključevala in povezala vse udeležence, kmete, predelovalce, trgovce in potrošnike (Slabe in sod., 2010).

V mednarodni projektni raziskavi (Research Support Scheme of the Open Society Support Foundation) – še v obdobju uvajanja ekološke pridelave v Sloveniji (1999) – smo na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) v Žalcu anketno analizirali možnosti trženja

²⁵ Prof., dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec in Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Pivola 10, 2311 Hoče, e-pošta: martin.pavlovic@ihps.si

²⁶ Diplomirana inženirka ekološkega kmetijstva (VS), e-pošta: tatjana.dri14@gmail.com

²⁷ Prof., dr., Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Pivola 10, 2311 Hoče, e-pošta: karmen.pazek@um.si

ekoloških proizvodov na širšem celjskem območju. Z analizo profila kupcev, motivov nakupovanja in informacijskega menedžmenta je ponujen primer strategije trženja. Rezultati ankete razkrivajo tedanje poznavanje ekološkega kmetijstva. Sveža, zdrava in okusna hrana spada po mnenju anketirancev med pomembnejše motive nakupovanja. Informacije o poreklu in načinu pridelave išče dobra polovica vprašanih. Po rezultatih ankete se je izkazalo, da je 88 % anketirancev pripravljenih nakupovati ekološke proizvode neposredno pri pridelovalcih. Za ekološke pridelke so anketiranci pripravljeni plačati tudi nekoliko več (Pavlovič, 2001; Pavlovič in sod., 2001a). V navedenem projektu je bila opravljena tudi anketna analiza kmetovalcev, zainteresiranih za ekološko kmetovanje. Ta pojasnjuje možnosti za ekološko pridelovanje na območju SV Slovenije, ki ga pokrivajo kmetijsko svetovalne službe Zavoda za živinorejo in veterino Celje. Med 50 anketiranimi kmetijami jih je bilo 64 % že vključenih v kontrolo ekološkega pridelovanja. Lega 56 % anketiranih kmetij je bila iznad 600 m nadmorske višine. Največ kmetij (36 %) je imelo med 20 in 30 ha skupnih površin (obdelovalne površine in gozd). Sklopi vprašanj so bili povezani neposredno z ekološko pridelavo, s tehnološko-ekonomskimi podatki nepremičnin (gospodarska poslopja, stavbišča, obdelovalna površina) in mehanizacije, opreme ter staleža živine. Po oceni anketirancev je bila vrednost letnih prihodkov v 40 % primerov ocenjena na 5.000 do 10.000 EUR. Pri največjem deležu vzorčenih kmetij (36 %) so bili letni stroški poslovanja 5.000 do 10.000 EUR. Motiv za vključitev v kontrolo ekološke proizvodnje je bil za 50 % anketirancev že način dela in življenja (Pavlovič in sod., 2000; Pavlovič in sod., 2001b).

Ekološko kmetijstvo še vedno predstavlja velik izziv za pridelovalce hrane. Vse več potrošnikov kaže zanimanje za bolj zdravo hrano; letna rast prometa z ekološkimi živili v zadnjih letih je ocenjena na 15 %. Ponudba ekoloških živil na slovenskem trgu je v letu 2010 komaj presegala en odstotek celotne ponudbe s kmetijskimi proizvodi, od tega je bilo slovenskih ekoloških živil na trgu zgolj 20 %. Z vse večjim povpraševanjem po tovrstno pridelani hrani pa ponudba domačih ekoloških živil močno zaostaja. V našem prostoru predstavljajo domača ekološka živila le majhen delež v tržnem prostoru. Prevladujejo uvožena ekološka živila (Slabe in sod., 2011).

Pomemben motiv za preusmeritev v ekološki način pridelave v Sloveniji so (bila) kmetijsko-okoljska plačila. Ta so motivirala pretežno kmete z večjim obsegom zemljišč in ekstenzivnim načinom pridelave, najpogosteje živinorejo. Tako je kvantitativna rast ekološkega sektorja v Sloveniji šla na račun povečevanja ekološkega travinja in absolutnega števila kmetij, manj (načrtno) pa se je povečevala pridelava ekoloških živil za domačega potrošnika. Pa vendar številni ekološki kmetje vse bolj usmerjajo svojo pridelavo na trg, obseg in način trženja pa se razlikujeta tako po pridelovalni usmeritvi kmetov, kot tudi glede na regijo (Lampič in Slabe, 2013).

Cilji Akcijskega načrta za razvoj ekološkega kmetijstva v Sloveniji do leta 2015 navajajo, da se eko-živila slovenskega porekla pretežno 80 % do 90 % prodajo po neposrednih tržnih poteh, večinoma na samih kmetijah, precej pa tudi na eko-tržnicah (Slabe in sod., 2010).

2 ZAKONODAJNI OKVIR EKOLOŠKE PRIDELAVE

Udeleženi v ekološki pridelavi in predelavi so kot osnovo vsem nadaljnjim predpisom dolžni upoštevati Zakon o kmetijstvu (Uradni list RS, št. 54/2008) ter ostale predpise s področja ekološkega kmetijstva, ki jih navajamo v nadaljevanju:

- Uredba sveta (ES) št. 834/2007, z dne 28. junija 2007, o ekološki pridelavi in označevanju ekoloških proizvodov in razveljavitvi Uredbe (EGS) št. 2092/91.
- Uredba Komisije (ES) 889/2008, z dne 5. septembra 2008, o določitvi podrobnih pravil za izvajanje Uredbe Sveta (ES) št. 834/2007 o ekološki pridelavi in označevanju ekoloških proizvodov glede ekološke pridelave, označevanja in nadzora.
- Pravilnik o ekološki pridelavi in predelavi kmetijskih pridelkov oziroma živil (Uradni list RS, št. 8/2014).
- Pravilnik o določitvi območij, ki so primerna za ekološko čebelarjenje (Uradni list RS, št. 103/2011).

Spodbudo k razvoju ekološkega kmetijstva prinaša Zakon o zelenem javnem naročanju (Uradni list RS, št. 102/11, 18/12, 64/12 in 2/13), ki določa minimalen delež ekoloških živil in spodbuja naročanje ekoloških živil, ki so v povratni, oziroma enotni embalaži, iz obnovljivih surovin. Minimalen delež ekoloških živil, ki ga morajo doseči naročniki od 1. januarja 2014 dalje, znaša 10 %. Zakon ne določa izvora ekoloških živil, kar pomeni, da domači pridelovalci zaradi tega niso v prednosti pred tujimi dobavitelji. Na tem področju bi bilo smotno urediti in pospešiti odkup z domačega trga.

Na področju kontrole ekoloških kmetij so v Sloveniji certificirane tri kontrolne organizacije, in sicer:

- Inštitut za kontrolo in certifikacijo v kmetijstvu in gozdarstvu (KON-CERT),
- Inštitut za kontrolo in certifikacijo Univerze v Mariboru za tehnično preizkušanje in analiziranje (IKC) ter
- Bureau Veritas d.o.o.

Nadzor nad delovanjem organizacij za kontrolo in certificiranje izvaja Inšpektorat za kmetijstvo, gozdarstvo in hrano (MKO, 2014). Glede na število strank oziroma ekoloških kmetij je največja kontrolna organizacija KON-CERT, pri kateri je bilo v nadzor že leta 2008 vključenih kar 1.769 ekoloških kmetij ali več kot 80 % vseh ekoloških kmetij v Sloveniji (Podmenik, 2012).

3 TRŽNE POTI ZA EKOLOŠKE PRIDELKE

3.1 Ekološke tržnice

Ekološke tržnice so – takoj za prodajo na lastnem dvorišču – druga najpomembnejša tržna pot pri podjetniško usmerjenih ekoloških kmetijah. V Sloveniji beležimo postopno rast ekoloških tržnic, ki delujejo po ustaljenem urniku, vendar niso odprte vsak dan. Večinoma delujejo enkrat tedensko, nekatere pa celo dvakrat tedensko. Nahajajo se v skoraj vseh večjih mestih: Ljubljana, Maribor, Kranj, Celje, Naklo, Bled, Kamnik, Tolmin in Novo mesto (ZZEKS, 2014).

Ekološke tržnice so za pomembno skupino kakih 100 tržno usmerjenih kmetij glavna tržna pot, prek katere ustvarijo dobri dve tretjini vsega svojega prometa. Tudi v skupnem prometu z ekološkimi živili v Sloveniji pomen ekoloških tržnic ni zanemarljiv, saj je znašal leta 2009, z ocenjenimi približno 1,6 mio €, promet skoraj 5 % celotnega dohodka od prodaje ekoloških živil v državi. Pomembna je tudi promocijska vloga ekoloških tržnic, tako v velikih mestih kot v lokalnem okolju, saj omogočajo neposreden stik porabnikov z ekološkimi pridelovalci ter tako spodbujajo pretok informacij in povečujejo zaupanje v ekološko kmetijstvo in ekološka živila. Rezultati te raziskave kažejo, da v intervjujih zajete kmetije s prodajo na ekoloških tržnicah ustvarijo od 50 do 100 % celotnega prometa (Slabe in sod., 2010).

3.2 Zelenjavni zabožčki

Lokalno kmetijstvo in kratke oskrbovalne verige imajo gospodarske, družbene in kulturne koristi za kmete, potrošnike in celotno podeželsko območje. Ta sektor povečuje prihodke kmetov, potrošnikom pa omogoča uživanje sveže in nepredelane hrane. Pomaga pri tesnejši povezavi med kmeti in potrošniki, prav tako pa krepi vez med podeželjem in mesti (EPRS, 2015).

Shema zelenjavnih zabožčkov deluje tako, da se kupci predhodno dogovorijo, da bodo redno prevzemali zabožčke lokalno pridelane zelenjave in sadja. Zabožčke lahko z ekoloških kmetij dostavljajo neposredno na dom ali na v naprej dogovorjeno zbirno mesto. To shemo lahko upravljajo lokalne zadruga. Te poskrbijo, da je vsebina zabožčkov neposredno iz bližnjih okoliških kmetij. Lahko pa tovrstno shemo vodijo podjetja, ki ponujajo svoje storitve na širšem geografskem območju in prav tako sodelujejo z mrežo lokalnih pridelovalcev. Po predhodnem dogovoru dobavljajo zaboje z dogovorjeno vsebino pridelkov in živil enkrat tedensko do vsaj dvakrat mesečno. Prednosti tovrstne sheme so predvsem okoljske, saj se znatno zmanjša količina prevoženih kilometrov in uporaba embalaže. Vsebina zaboja je odvisna od sezonsko razpoložljivega sadja in zelenjave, kar prispeva z zmanjševanju količin zavržene hrane. Nekateri ponudniki omogočajo nakup tudi dodatnih proizvodov, podobno kot pri spletni prodaji (GEF, 2015).

3.3 Partnersko kmetovanje

Partnersko kmetovanje (angl. Community supported agriculture - CSA) je neposredna povezava med kmetom (pridelovalcem) in podporniki (potrošniki). Zagotavlja neposredno vez med proizvodnjo in porabo hrane. Kupci »podjetniško posvojijo« svojega pridelovalca ekoloških pridelkov. Takšni podporniki običajno zapolnijo letni proračun kmetijske proizvodnje in si s tem zagotovijo delež pridelka, kmetija pa zagotavlja, da bo po svojih najboljših močeh dobavljala zdravo, sezonsko, sveže pridelano hrano (CSA, 2015).

Temeljne ideje partnerskega kmetovanja so:

- **Partnerstvo**; vzajemna zveza med kmeti in potrošniki glede dobave hrane, pridelane v posamezni sezoni.
- **Lokalnost**; predstavlja promocijo lokalne izmenjave in s tem aktivno sodelovanje pri spodbujanju lokalnega gospodarstva.
- **Solidarnost**; partnerstvo, ki je osnovano na solidarnosti med sodelujočimi in vključuje:

- delitev tako tveganja kot koristi vpletenih. Spoštuje naravne ritme letnih časov, spoštuje okolje, naravno in kulturno dediščino ter zdravje.
- Prav tako vključuje plačevanje »poštene cene« pridelkov, kar kmetom in njihovim družinam omogoča dostojno življenje.
- **Naveza prodajalec/kupec**; temelji na neposrednem stiku in medsebojnemu zaupanju, brez posrednikov, podrejenosti ali hierarhije (CSA, 2015).

Koristi partnerskega kmetovanja za lokalne skupnosti so naslednje:

- Potrošniki prejemajo svežo hrano njim znanega izvora.
- Okoljske koristi kot posledica manj t.i "prehranskih kilometrov", zmanjšanja uporabe embalaže in z ekološkim kmetovanjem zagotavljanja boljšega počutja živali.
- Okrepljeno lokalno gospodarstvo z višjo stopnjo zaposlenosti, več lokalne pridelave in lokalne porabe ter s tem kroženja denarja na lokalni ravni.
- Osveščanje potrošnikov o načinu in stroških pridelave in prireje ter posredno spodbujanje trajnostnega kmetovanja.

Koristi partnerskega kmetovanja za kmete so:

- Bolj zanesljiv dohodek, kar kmetu omogoča poslovno načrtovanje in več časa za osredotočanje zgolj na pridelavo.
- Višje in bolj pošteno plačilo kmetom za pridelke, ki jih prodajo neposredno kupcu.
- Večje sodelovanje z lokalno skupnostjo s tem pa priložnost, da se neposredno odzovejo na potrebe in želje potrošnikov.
- Pomoč s pobudami za delo in načrtovanje za prihodnost (CSA, 2015).

4 ZAKLJUČEK

Pomemben vidik oskrbe prebivalcev v Sloveniji je zagotovo varna in kakovostna hrana. Ekološko kmetijstvo se je kot standardizirana in nadzorovana oblika pridelave na mednarodni ravni začelo uveljavljati v 70. letih 20. st., v EU pa so zasebne certifikacijske sheme dopolnili še z uredbo o ekološki pridelavi leta 1991. Obseg nadzorovane ekološke pridelave tako v državah EU kot drugje po svetu se iz leta v leto povečuje.

V letu 2014 je bilo v Sloveniji v ekološko kontrolo vključenih 3.298 kmetijskih gospodarstev (kar predstavlja 4,6 % vseh kmetij v Sloveniji) z 41.237,19 ha kmetijskih zemljišč v uporabi (8,7 % od vseh kmetijskih zemljišč v uporabi v letu 2014). Od teh je 2.537 kmetij že zaključilo preusmeritveno obdobje (pridobilo 'eko' certifikat), ki traja najmanj 24 mesecev od prve prijave v kontrolo (MKGP, 2015). Celovita gospodarska ocena ekološkega kmetijstva v Sloveniji pa je podrobneje predstavljena v projektni raziskavi (Rozman in sod., 2014).

Za trženje slovenskih 'eko' živil so značilne tudi specifične tržne poti, oziroma velik delež neposrednega trženja. Poleg že uveljavljenih neposrednih tržnih poti, kot so ekološke tržnice in neposredna prodaja na kmetiji, so se razvile tudi omenjene dodatne oblike trženja. Tudi interes posameznih kmetov za prodajo institucionalnim kupcem (šole, vrtci, ...) se povečuje.

Iz različnih raziskav in prispevkov razberemo, da dajejo kupci ekoloških pridelkov in živil v Sloveniji izrazito prednost lokalno, regionalno ali nacionalno pridelanim in predelanim živilom. Pogled na trgovske police z uvoženim blagom pa nas opozarja, da obstoječa ponudba

krepeko zaostaja za potrebami oz. pričakovanji kupcev ekoloških pridelkov in ekološko pridelane hrane.

V slovenskih razmerah kmetijstva nudi ekološka pridelava zagotovo ugodno izhodišče za lokalno trajnostno oskrbo prebivalstva s hrano. S tem pa si zasluži v prihodnje tudi večjo pozornost ukrepov kmetijske politike.

Zahvala

Prilagojeno članka je sofinancirala vlada RS v okviru projekta V4-1514 EKO-GASTRO.

5 VIRI

- Bavec M., Robačar M., Repič P., Štubuc-Štarčevič D. 2009. Sredstva in smernice za ekološko kmetijstvo. Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede: 11 s.
- EPRS. 2015. European Parliamentary Research Service, (elektronski vir). Dostopno na: <http://epthinktank.eu/2013/10/14/local-agriculture-and-short-food-supply-chains/> (25.5.2015).
- GEF. 2015. Green European Foundation asbl for the Greens/EFA Group in the European Parliament, (elektronski vir). Dostopno na: <http://greennewdeal.eu/agriculture/successes/2011/organic-vegetable-box-schemes.html> (25.5.2015).
- CSA. 2015. Community supported agriculture, (elektronski vir). Dostopno na: <http://www.ifoam.bio/en/community-supported-agriculture-csa> (23.3.2015)
- Lampič B., Slabe A. 2013. Tržna pridelava na ekoloških kmetijah, kot dejavnik razvoja na podeželju. Nove razvojne perspektive, Ljubljana: 111-125.
- MKG, 2015. Analiza stanja ekološkega kmetovanja, 2015 (elektronski vir). Dostopno na: http://www.mkgp.gov.si/si/delovna_podrocja/kmetijstvo/ekolosko_kmetovanje/analiza_stanja_ekoloskega_kmetovanja/
- Pavlovič M., Štefanič I., Štefanič E., Oset Luskar M., Majer D., Turk J. 2000. Analiza razmer za ekološko pridelavo na kmetijah dela SV Slovenije. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo, 75, 2: 253-264.
- Pavlovič M. 2001. Trženje ekoloških proizvodov - dopolnilna dejavnost na slovenskih kmetijah. Hmeljarski bilten, 8, (1): 73-79.
- Pavlovič M., Štefanič I., Štefanič E., Adam Kričaj N., Majer D., Turk J. 2001a. Analiza možnosti trženja ekoloških proizvodov na širšem celjskem območju. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo, 77(1): 39-48.
- Pavlovič M., Majer D., Oset Luskar M. 2001b. Ekološka pridelava hrane na kmetijah SV Slovenije. Hmeljarski bilten, 8(1): 63-71.
- Rozman Č., Pažek K., Škraba A., Slabe A., Lampič B., Mrak I., Dimovski V., Penger S., Peterlin J., Uhan M., Pozdrec S. 2014. Končno poročilo projekta CRP V7-1118-2013: Ekonomika ekoloških kmetij v Sloveniji, Maribor: 163 s.
- Slabe A., Kuhar A., Juvančič L., Tratar-Supan A-L., Lampič B., Pohar J., Gorečan M., Kodelja U. 2010. Analiza stanja in potencialov za rast ponudbe ekoloških proizvodov v luči doseganja ciljev Akcijskega načrta za razvoj ekološkega kmetijstva v Sloveniji do leta 2015, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta in Inštitut za trajnostni razvoj. Domžale.
- Slabe A., Lampič B., Juvančič L. 2011. Potenciali ekološke pridelave za trajnostno lokalno oskrbo s hrano v Sloveniji, Ljubljana. Razprave, Dela 36: 93-109.
- ZZEKS. 2014 Zveza združenj ekoloških kmetov Slovenije, (elektronski vir). Dostopno na: <http://www.zveza-ekokmet.si/ekoloko-kmetijstvo/ekoloke-trnice> (6.5.2014)

TRŽNA PONUDBA EKOLOŠKIH ŽIVIL NA OBMOČJU GORENJSKE

Martin PAVLOVIČ²⁸ in Tatjana DRINOVEC²⁹

Strokovni članek / professional article
Prispelo / received: 15. oktober 2015
Sprejeto / accepted: 17. november 2015

Izvleček

V analizi ponudbe ekološke pridelave in načinov trženja ekoloških živil na območju Gorenjske smo zajeli 35 % oziroma 80 od 228 ekoloških kmetij na območju KGZS Kranj (leta 2013). Kar 88 % anketiranih ekoloških kmetij trži presežke pridelave. Med vprašanimi si 50 % ekoloških kmetovalcev želi še razširiti obstoječo ponudbo na svoji kmetiji. Več kot polovica (61 %) jih je mnenja, da večjih količin pridelkov ne bi bilo težko prodati. Zaznali smo potrebo kmetov po izboljšanju sodelovanja s strokovnimi službami, predvsem na področju svetovanja v praksi in pri administrativnih postopkih.

Ključne besede: ekološko kmetijstvo / Gorenjska / analiza trženja / ponudba živil

MARKET SUPPLY OF ORGANIC FOODSTAFFS IN THE GORENJSKA REGION

Abstract

An organic production supply, as well as marketing activities linked to organic products in the Gorenjska region were analyzed. In a sample survey, we captured 35 %, respectively 80 out of 228 organic farms in the area of the Chamber of Agriculture and Forestry Kranj - recorded in 2013. There were 88 % of the surveyed organic farms selling their surplus production. Among the respondents, 50 % of the organic farmers planned to expand their supply. More than half of them (61 %) agreed that larger quantities of crops would not be difficult to sell. We found out the existing need of farmers to improve cooperation with the advisory services, particularly in consulting practice and assistance in administrative procedures.

Key words: organic farming / Gorenjska region / marketing analysis / organic products' supply

1 EKOLOŠKO KMETIJSTVO V SLOVENIJI

Ekološko kmetijstvo predstavlja obliko in način kmetovanja, ki v Sloveniji postopoma pridobiva na pomenu. Naša država ima pestre naravne danosti z bogato pokrajinsko raznovrstnostjo ter velikim deležem gorsko-višinskih kmetij ter območij z omejenimi možnostmi za kmetijsko dejavnost (Bavec in sod., 2009; Blatnik in Dovečar, 2010). V širših zavarovanih območjih imajo ekološki pridelovalci več možnosti ter boljše pogoje za obstoj. Eden izmed njih je zagotovo promocija in razvoj blagovnih znamk zavarovanih območij, ki vključuje prodajo njihovih ekoloških izdelkov (Štraus in sod., 2011; Lampič in Slabe, 2013).

²⁸ Prof., dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec in Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Pivola 10, 2311 Hoče, e-pošta: martin.pavlovic@ihps.si

²⁹ Dipl. inž. eko. kmet. (VS), e-pošta: tatjana.dri14@gmail.com

Z opuščanjem kmetovanja zavarovana območja izgubljajo na privlačnosti kulturne pokrajine, kar vsekakor vpliva na turizem. Ekološko kmetijstvo se s turizmom lahko povezuje tudi na drugih področjih, kot npr. pri oblikovanju posebnih destilacij, oblikovanju ponudbe tradicionalne kulinarike, ki temelji na lokalnih proizvodih ekološkega kmetijstva, in pri vzpostavljanju infrastrukture za obiskovalce zavarovanih območij, ki pritegne obiskovalce na določene lokacije, kjer je organizirana prodaja lokalnih proizvodov višje kakovosti (Pavlovič in sod., 2000; Štraus in sod., 2011).

Značilna posledica specifičnih naravnih razmer za kmetijsko pridelavo v Sloveniji je velik delež absolutnega travinja (travnikov in pašnikov) ter razmeroma majhen delež njiv in trajnih nasadov (sadovnjakov in vinogradov) v strukturi rabe kmetijskih zemljišč (ANEK, 2006).

V letu 2013 je bilo po podatkih Ministrstva za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano v ekološko kontrolo vključenih 3.049 kmetijskih gospodarstev, kar je predstavljalo 4,1 % vseh kmetij v Sloveniji. Obdelovali so 38.664 ha kmetijskih zemljišč, 8,4 % vseh kmetijskih zemljišč v uporabi v letu 2013. Od teh je 2.232 kmetij že zaključilo preusmeritveno obdobje s pridobitvijo certifikata, ki traja najmanj 24 mesecev od prve prijave v kontrolo (MKO, 2014).

Travinje je zavzemalo največji delež s 33.530 ha in je predstavljalo 87 % površin, vključenih v ekološko kontrolo. Njive so zavzemale 3.148 ha in 8 % delež vseh površin. Vinogradi so obsegali zgolj 401 ha in oljčniki 208 ha. Sadovnjaki, vključujoč tako intenzivno kot ekstenzivno rabo, so pokrivali 1.148 ha. Vrtnine na prostem in v zaščitenem prostoru pa so bile na površini 228 ha (MKO, 2014).

V letu 2013 sta se povečali ekološka reja živali in vzreja vodnih organizmov (preglednica 1). Število živali v ekološki reji je bilo v tem letu v vseh kategorijah večje kot leto prej. Govedi, rejениh na ekološki način, je bilo 25.168, drobnice 40.150, kopitarjev 3.544, perutnine 54.757, čebeljih družin 1.803. Najbolj se je povečalo število prašičev na 2.798, za kar 13 % več kot preteklo leto (Poročilo, 2014).

Preglednica 1: Skupno število živali na kmetijah, vključenih v nadzor ekološkega kmetovanja 2009-2013 (Poročilo, 2014)

Table 1: The total number of animals on the farms involved in the control of organic farming 2009-2013 (Report, 2014)

	2009	2010	2011	2012	2013
govedo	18.238	20.623	22.915	22.977	25.168
drobnica	41.320	43.654	40.617	41.108	40.150
kopitarji	2.784	2.755	2.955	3.262	3.544
prašiči	2.149	2.367	2.219	2.485	2.798
perutnina	21.904	27.751	29.558	52.757	54.757
čebelje družine	1.912	1.342	1.646	1.598	1.803
ribe	370	700	700	1.150	108.150
ostalo (kunci, jelenjad)	1.543	801	2.531	3.000	3.124

Preglednica 2: Število ekoloških kmetij, vključenih v kontrolo, v primerjavi z vsemi kmetijami, za leto 2010 (Štraus in sod., 2011)

Table 2: The number of organic farms involved in the control compared to all farms in 2010

Statistična regija	Število vseh kmetij leta 2010	Število kmetij v eko kontroli leta 2010	Delež (%)	(%) od vseh vključenih kmetij v kontrolo
Gorenjska	4.477	189	4,22	8,52
Pomurska	8.905	69	0,77	3,11
Podravska	12.339	213	1,73	9,60
Koroška	2.744	243	8,86	10,96
Savinjska	11.441	386	3,37	17,40
Zasavska	1.076	60	5,58	2,71
Spodnje posavska	5.232	68	1,30	3,07
JV Slovenija	8.085	213	2,63	9,60
Osrednjeslovenska	8.681	259	2,98	11,68
Notranjsko-kraška	2.883	164	5,69	7,39
Goriška	5.790	242	4,18	10,91
Obalno kraška	3.058	112	3,66	5,05
Skupaj	74.711	2.218	2,97	100,00

Na vseh kmetijskih zemljiščih v uporabi z ekološkim statusom je bilo v letu 2013 skupaj pridelanih 78.846 ton pridelkov, kar je v povprečju za 15 % več kot v 2012. Najbolj izrazito se je povečal pridelek oljk, in sicer za 110 %, zelenjadnic, melon in jagod za 73 %, sadja za 51 % in grozdja za 43 %. Količina ekološko pridelanih oljk je tako pomenila 14 % vseh oljk v letu 2013, pridelanih v Sloveniji. Od celotnega pridelka naslednjih skupin zelenjadnic je bilo v Sloveniji na ekološki način pridelano: zelenjadnic, melon in jagod 1,7 %, ekološkega sadja 2,2 % in ekološkega grozdja 0,8 % (SURS, 2013).

Zaradi pomanjkanja ekoloških obratov predelave se velike količine mesa iz ekološke reje prodajo kot meso iz konvencionalne reje. Količina namolzenega mleka živali v ekološki reji je bila za 7 % večja kot v letu 2012. Zelo se je povečala proizvodnja konzumnih jajc; rejci so pridelali prek 12 milijonov jajc, kar je trikrat več kot leto prej (SURS, 2013).

2 MATERIAL IN METODE

Seznam ekoloških kmetij (MKO 2013), vključenih v kontrolo in certificiranje v letu 2013, je omogočal nabor anketiranih kmetij. Od septembra 2014 do marca 2015 smo anketirali kmetije na območju Kmetijsko gozdarske zbornice (KGZS) Kranj, ki sicer deluje v 18-tih gorenjskih občinah in je v letu 2013 vključevala 228 ekoloških kmetij. Za vzorec smo naključno izbrali 80 ekoloških kmetij (35 %), največ v organizacijski enoti Radovljica, ki vključuje občine: Bled, Gorje, Bohinj in Radovljica. Teh je bilo 34 % vseh anketiranih kmetij. Sledi organizacijska enota Škofja Loka, ki zavzema občine: Gorenja Vas - Poljane, Škofje Loka, Žiri in Železniki, kjer smo anketirali 27 % vseh kmetij. V organizacijski enoti Kranj, ki vključuje občine Cerklje, Jezersko, Naklo, Preddvor in Šenčur, je bilo teh kmetij 16 %. Na območju organizacijske enote in občine Trzič je bilo anketiranih 13 % ekoloških kmetij.

Najmanj, in sicer 10 %, pa smo jih anketirali v organizacijski enoti Jesenice, ki obsega občine Kranjska Gora, Žirovnica in Jesenice.

Vsebinski sklopi raziskave vključujejo (i) značilnosti in strukturo analiziranih kmetij, (ii) strukturo pridelave na ekoloških kmetijah, (iii) sodelovanje s strokovnimi službami v kmetijstvu in (iv) trženje ekoloških pridelkov. V nadaljevanju je zgoščeno prikazan del rezultatov diplomske raziskave (Drinovec, 2015).

3 REZULTATI Z RAZPRAVO

3.1 Značilnosti analiziranih kmetij

V vzorcu prevladujejo kmetije z velikostjo 5-10 ha obdelovalne površine (44 %). Sledijo kmetije z velikostjo obdelovalne površine nad 10 ha (38 %). Najmanj anketiranih kmetij je v razredu 0 - 3 ha (7 %). Največ anketiranih kmetij leži na nadmorski višini 500 do 700 m (38 %), z lego od višine 700 do 1.000 m je 34 % kmetij, 23 % kmetij v vzorcu leži pod mejo 500 m, nad višino 1.000 m nadmorske višine pa je 6 % kmetij.

Na anketiranih kmetijah skupno obdelujejo 738 ha površin, od tega največji del zavzemajo travniki in pašniki, kar 88 % vseh površin. Nekaj več kot 10 % predstavljajo njive. Trajnih nasadov je zgolj slaba 2 %, manj kot 0,2 % pa so druge kmetijske površine, kot so vrtovi in rastlinjaki. V vzorcu je bila povprečna velikost kmetij 9,2 ha. Najmanjša anketirana kmetija je bila velika 0,3 ha, največja pa 23 ha.

3.2 Struktura pridelave analiziranih kmetij

Največ vprašanih je svojo proizvodno usmeritev opredelilo z rejo krav dojilj (46 %), 35 % anketiranih je navedlo možnost drugo in se v nadaljevanju opredelili kot mešane kmetije. 6 % navaja svojo proizvodnjo usmeritev kot poljedelske kmetije in kmetije s prirejo mleka. V manjših odstotkih so anketirani navedli rejo drobnice, zeliščarstvo in prirejo mladega pitanega goveda (preglednica 3).

Preglednica 3: Proizvodnja usmeritev na anketiranih kmetijah

Table 3: Production programs on surveyed farms

Proizvodna usmeritev	Število kmetij	Odstotek (%)
poljedelstvo	5	6,3
vrtnarstvo	/	/
sadjarstvo	/	/
zeliščarstvo	2	2,5
reja krav dojilj	37	46,3
prireja mladega pitanega goveda	1	1,3
reja drobnice	2	2,5
mlečna prireja	5	6,3
drugo	28	35,0

Pri opredelitvi ponudbe na analiziranih kmetijah smo proizvode, ki jih tržijo na kmetijah, uvrstili v več glavnih skupin. Pri tem smo ugotovili, da je pri pridelavi mleka tržni delež največji, in sicer več kot 90 %, pri letni prireji 258.899 l mleka. Največji, 95 % tržni delež smo zaznali pri pridelavi konoplje, ki pa je na majhni površini in so jo na analiziranih kmetijah proizvedli zgolj 2.301 kg. Z 88 % tržnim deležem je bila na tretjem mestu prodaja zelišč (161,4 kg). Okoli 60 % delež od celotne proizvodnje, namenjene trgu, je bil pri pridelavi žit (63.908 kg), pri krompirju (61.530 kg) in prireji mesa (38.105 kg). Vrtnine oziroma zelenjavo analizirani kmetovalci tržijo v 75 % deležu, celotna pridelava znaša 19.480 kg. Najmanjši delež tržne pridelave smo zaznali pri sadju, ki ga na analiziranih kmetijah pridelajo 16.440 kg in od tega tržijo le 24 %.

Velja omeniti, da znaten del ekološko prirejenega mleka in mesa prodajo kot konvencionalno blago in ne kot ekološko in zaradi tega z znatno nižjo odkupno ceno. Za skupine žit, zelenjave, sadja in ostalih poljščin prodaja ni problematična (preglednica 4).

Preglednica 4: Ponudba ekoloških pridelkov in živil na analiziranih kmetijah

Table 4: Supply of organic products on farms analyzed

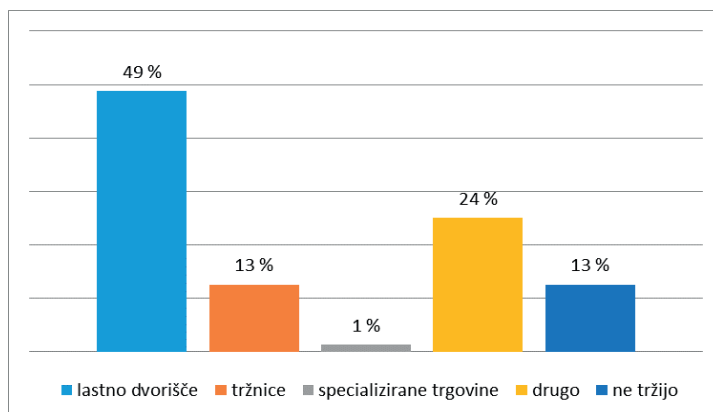
	Skupaj	Tržni del	Delež (%) tržne pridelave
mleko (l)	258.899	234.359	90,5
meso (kg)	38.105	22.397	58,8
žita (kg)	63.908	37.129	58,1
koruza (kg)	14.600	10.165	69,6
konoplja (kg)	2.301	2.195	95,4
lan (kg)	650	225	34,6
krompir (kg)	61.530	36.204	58,5
vrtnine (kg)	19.480	14.549	74,7
sadje (kg)	16.440	3.881	23,6
zelišča (kg)	161	141	87,6

3.3 Trženje ekoloških pridelkov

Kmetovalce smo vprašali o načinu trženja na njihovi kmetiji. 13 % anketiranih je odgovorilo, da na njihovi kmetiji ne tržijo ničesar. Ostalih 87 % anketiranih je navedlo njihovo najbolj pogosto uporabljane prodajne načine: Prodaja na lastnem dvorišču (49 %), tržnice (12 %), specializirane trgovine (1 %) ter drugo (24 %). Pri slednjem so vprašani največkrat navedli, da tržijo prek kmetijske zadruge (slika 1).

Glede možnosti širitve lastne ponudbe ekoloških pridelkov na trgu je 50 % vprašanih pritrdilo, 50 % pa te možnosti ne vidi. Za omejenost širitve ponudbe ekoloških pridelkov so anketiranci navedli različne odgovore: Neugodne naravne razmere za pridelavo oziroma prirejo (11 %), premalo razpoložljive delovne sile (11 %), premajhen obseg razpoložljivih obdelovalnih površin, ni osebne interesa (9 %), težave s trženjem (5 %) in drugo (14 %).

Ovir pri prodaji povečanega obsega pridelave ekoloških pridelkov na analiziranih kmetijah ni navedlo 61 % vprašanih, 38 % pa meni, da bi imeli težave s prodajo povečanega obsega pridelkov.



Slika 1: Glavne prodajne poti na ekoloških kmetijah
Figure 1: Main sales channels on organic farms

3.4 Sodelovanje s strokovnimi službami

Na analiziranih kmetijah se po rezultatih ankete poslužujejo različnih storitev Kmetijsko gozdarske zbornice Slovenije (KGZS), kot jih navajamo: Oddaja zbirne vloge za kmetijske subvencije (91 %), izobraževanje in usposabljanje (76 %), svetovanje o tehnologiji pridelave ali priraje (8 %), priprava gnojilnih načrtov (5 %) in izdelava poslovnega načrta (1 %). Med anketiranimi ekološkimi kmetovalci na Gorenjskem je zadovoljivo dostopnost do strokovnega znanja o ekološkem kmetijstvu navedlo 88 % vprašanih. V anketni raziskavi je 51 % vprašanih odgovorilo, da nimajo zadostne strokovne podpore s strani KGZS.

Iz ankete je razvidno, da kmetovalci od pristojnih državnih služb pričakujejo več podpore pri finančni pomoči (35 %), intenzivnejšem strokovnem svetovanju (25 %) in večji propagandi ekološkega kmetijstva (23 %). V vzorcu analiziranih kmetij jih 19 % celo navaja, da ne pričakujejo in ne potrebujejo nobene dodatne pomoči in podpore. Zaznali smo tudi mnenja, da bi morala biti obstoječa izobraževanja bolj strokovna, prav tako pa pričakujejo tudi več strokovnega znanja s strani svetovalcev, predvsem pa dela na terenu.

O možnostih za izboljšanje prenosa znanja in strokovnih informacij so anketirani navedli naslednje: Več obiskov svetovalcev na kmetijah (34 %), več aktualnih izobraževanj in usposabljanj (18 %), več strokovnih ekskurzij (15 %), izdajanje tiskanih in elektronskih informacij (14 %), več možnosti obiskov pri svetovalcih KGZS (5 %), informacije prek telefona ali odzivnika (1 %) in drugo (43 %). Pri slednjem pa so dodali, da si želijo več osebnega stika s strokovnjaki in praktičnega svetovanja. Nekateri želijo, da bi bila obstoječa izobraževanja, ki so pogoj za vključitev v kmetijsko okoljska plačila, bolj strokovna, nekaj vprašanih pa je navedlo, da težav pri prenosu znanja nimajo in da so po njihovem mnenju vse zelene informacije zlahka dostopne (19 %).

4 SKLEPI

V trženjski raziskavi smo analizirali možnosti ponudbe z ekoloških kmetij na Gorenjskem.

Najpomembnejše živilo v ponudbi tretjine (35 %) anketiranih ekoloških kmetij predstavlja prireja mleka (258.899 l), z 91 % tržnim deležem. Izpostaviti velja še približno 60 % tržni delež od celotne proizvodnje, namenjene trgu, pri pridelavi žit (63.908 kg), krompirja (61.530 kg), koruze (14.600 kg) in prireji mesa (38.105 kg). Vrtnine tržijo v 75 % deležu od celotne pridelave 19.480 kg. Najmanjši delež tržne pridelave smo zaznali pri prodaji sadja, ki ga na analiziranih kmetijah pridelajo 16.440 kg, od tega pa tržijo le 24 %. Polovica anketiranih (49 %) prodaja največ svojih ekoloških pridelkov na domačem dvorišču. Meso in mleko prodajajo tudi brez ekološke oznake. Pri trženju obstajajo tudi še številne podjetniške možnosti v povezovanju kmetov pri skupnih nastopih na trgu.

Polovica (50 %) vprašanih načrtuje širitev ekološke pridelave. Poleg razvoja turizma na kmetijah anketiranci razmišljajo o dodatni ponudbi predelave mesa in mlečnih izdelkov. Kot možnosti anketiranci navajajo povečanje pridelave zelenjave in žit (15 %), ali pa le zgolj širitev pridelave (5 %). 61 % vprašanih je mnenja, da s prodajo pridelkov pri povečanem obsegu proizvodnje ne bi imelo težav.

Po raziskavi polovica (51 %) vprašanih ni zadovoljnih s storitvami strokovnih služb. Želijo več osebnega stika s svetovalci, več praktičnega svetovanja, pomoč pri prodaji ter poenostavljeno administracijo.

5 VIRI

- Bavec M, Robačar M, Repič P, Štubuc-Štarčevič D. 2009. Sredstva in smernice za ekološko kmetijstvo. Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede: 11.
- Blatnik M, Dovečar M. 2010, Vloga ekološkega kmetovanja na zavarovanih območjih Slovenije, Dela 34: 211-222.
- Drinovec T. Analiza potencialov ponudbe ekoloških živil na območju Gorenjske. Diplomsko delo. Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede: 40.
- Lampič B, Slabe A., 2013. Tržna pridelava na ekoloških kmetijah, kot dejavnik razvoja na podeželju. Nove razvojne perspektive, Ljubljana: 111-125.
- Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, Statistični podatki o ekološkem kmetijstvu za Gorenjsko, Ljubljana, 2013: 7.
- Pavlovič M, Štefanič I, Štefanič E, Oset Luskar M, Majer D, Turk J. 2000. Analiza razmer za ekološko pridelavo na kmetijah dela SV Slovenije. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo, 75 (2): 253-264.
- Poročilo o stanju kmetijstva, živilstva, gozdarstva in ribištva v letu 2013, Kmetijski inštitut Slovenije, 2014, Ljubljana: 228.
- SURS, Statistični Urad Republike Slovenije, Ekološko kmetijstvo, Slovenija, 2013- končni podatki. (elektronski vir)
<http://www.stat.si/StatWeb/glavnanavigacija/podatki/prikazistaronovico?IdNovice=6370>
(3.3.2015).
- Štraus S, Bavec F, Bavec M. 2011. Ekološko kmetijstvo kot možnost razvoja zavarovanih območij. Acta geographica Slovenica, št.51-1:151-168.

