

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

Hmeljarski bilten Hop Bulletin

18(2011)



Žalec, 2011

Hmeljarski bilten / Hop Bulletin ISSN 0350-0756

Izdaja /
Issued by

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

Urednici /
Editors

dr. Barbara Čeh in **dr. Andreja Čerenak**

Uredniški odbor /
Editorial Board

dr. **Barbara Čeh** (IHPS), dr. **Andreja Čerenak** (IHPS), prof. dr. **Anton Ivančič** (Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Maribor / University of Maribor, Faculty of Agriculture and Life Sciences), doc. 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. **Milica Kač** (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. **Martin Pavlovič** (IHPS), dr. **Sebastjan Radišek** (IHPS), dr. **Elisabeth Seigner** (Freising, ZRN), dr. **Siniša Srečec** (Visoko gospodarsko učilište u Križevcima, Hrvaška / College of Agriculture at Križevci, Croatia), prof. dr. **Anton Tajnšek** (emeritus)

Naslov uredništva,
umeritev /
Address of Editor,
editorial policy

Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, Slovenija;
e-pošta: barbara.ceh@ihps.si in andreja.cerenak@ihps.si
Prispevki so recenzirani. Za jezikovno pravilnost odgovarjajo avtorji. /
Papers are reviewed and revised. Authors are fully responsible for proper
linguistic structure of the text. English text is proofread.

Domača stran /
Home page

<http://www.ihps.si>

Financer /
Financed by

Javna agencija za knjigo Republike Slovenije /
Slovenian Book Agency

Naročnina /
Subscription

Posamezna številka 20,00 EUR
Individual issue 20,00 EUR

Trans. račun /
Account

06000-0006336339 Banka Celje d.d., Celje

Bilten selektivno
zajemajo /
Indexed and
abstracted by

COBISS, AGRIS, CABI Publishing, EBSCO Publishing

Dokumentacijska
obdelava /

Mednarodna: Slovenski nacionalni center AGRIS /
International: Slovene National AGRIS Center

Indexing,
Classification and
Networking

Domača: Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Centralna
biotehniška knjižnica /

Tisk /
Printed by

National: UL, Biotechnical Faculty, Central Biotechnical Library
NTD d.o.o.

Natisnjeno v 100 izvodih. / Printed in 100 copies.

Avtorska pravica /
Copyright

© 2011 Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije /
© 2011 Slovenian Institute of Hop Research and Brewing

Hmeljarski bilten / Hop Bulletin

ISSN 0350-0756

VSEBINA / CONTENTS

s. / p.

Siniša **SREČEC**, Vesna **ZECHNER-KRPAN**, Vlatka **PETRAVIĆ-TOMINAC**,
Lidija **KOZAČINSKI**, Maja **POPOVIĆ**, Andreja **ČERENAK**

Sekundarni metaboliti hmelja in možnosti uporabe hmelja (*Humulus lupulus* L.) v prehrani prežvekovalcev

/ Hop secondary metabolites and possibilities of using hop (*Humulus lupulus* L.) in
nutrition of ruminants5

Barbara **ČEH**, Benoit **LE RUMEUR**

PRP products in hop production – impact on soil and yield

/ PRP proizvodi v pridelavi hmelja – vpliv na tla in pridelek 15

Andreja **ČERENAK**, Martin **PAVLOVIČ**, Monika **OSET LUSKAR**, Iztok Jože
KOŠIR

Characterisation of Slovenian hop (*Humulus lupulus* L.) varieties by analysis of essential oil

/ Karakterizacija slovenskih sort hmelja (*Humulus lupulus* L.) z analizo eteričnega
olja27

Magda **RAK CIZEJ**, Anja **CILENŠEK**, Sebastjan **RADIŠEK**

Preliminarne raziskave življenjskega kroga hmeljevega rilčkarja (*Neoplinthus tigratus porcatu*) v nadzorovanih razmerah

/ The preliminary study of life cycle of hop snout weevil in controlled conditions33

Sebastjan **RADIŠEK**, Branka **JAVORNIK**

Taksonomija in variabilnost fitopatogenih vrst gliv iz rodu *Verticillium*
/ Taxonomy and variability of phytopathogenic *Verticillium* species.....41

Sebastjan **RADIŠEK**, Silvija **FERK**

Preizkušanje dveh metod testiranja odpornosti sončnic na glivo *Alternariaster helianthi*
/ Comparison of two testing assays to evaluate sunflower resistance against *Alternariaster helianthi*56

Anton **TAJNŠEK**, Lena **TAJNŠEK**

Gorolka in Savinja, dve novi slovenski sorti pšenice
/ Gorolka and Savinja, the two new Slovenian wheat cultivars.....65

Martin **PAVLOVIČ**, Igor **ZEMLJIČ**, Viljem **PAVLOVIČ**

Tržni potenciali za prodajo sliv in češpelj v Sloveniji
/ Market potentials for selling plums and prunes in Slovenia.....72

Robert **HRASTAR**, Iztok Jože **KOŠIR**

Navadni riček (*Camelina sativa* (L.) Crantz) kot alternativna oljnica
/ *Camelina sativa* (L.) Crantz as an alternative oilseed85

SEKUNDADRNI METABOLITI HMELJA (*Humulus lupulus* L.) IN MOŽNOSTI UPORABE HMELJA V PREHRANI PREŽVEKOVALCEV

Siniša SREČEC¹, Vesna ZECHNER-KRPAN², Vlatka PETRAVIĆ-TOMINAC³,
Lidija KOZAČINSKI⁴, Maja POPOVIĆ⁴, Andreja ČERENAK⁵

UDC / UDK 633.791:636.084(045)

pregledni znanstveni članek / scientific review article

prispelo / received: 23.10.2011

accepted / sprejeto: 02.12.2011

Izvelek

Hmeljne alfa- in beta-kislinae so sekundarni metaboliti hmelja, katerih uporaba in funkcija je poznana predvsem v pivovarstvu in v povezavi z alfa-kislinami. Čeprav dosedanje raziskave dokazujejo, da uporaba hmelja nima večjega vpliva na povečanje proizvodnje in kvaliteto mleka, je bilo na začetku tega stoletja ugotovljeno, da imajo hmeljne kisline antibiotični učinek oz. da zmanjšujejo populacijo gram pozitivnih bakterij in praživali v prebavnem traktu prežvekovalcev. Znano je, da v primeru večjega števila gram pozitivnih bakterij v prehrani živali in/ali na pašnikih prihaja do zmanjševanja izkoristljivosti krmil in celo do obolevnosti živali. Najpogostejša terapija v takšnem primeru je uporaba antibiotikov iz razreda ionofornih antibiotikov. Hmeljne kisline imajo zaradi svoje specifične kemijske strukture enak učinek kot ionoforni antibiotiki in hmeljni peleti, ki se lahko dodajajo celo preventivno v koncentrirana krmila. Poleg neposrednega učinka na zmanjšanje populacije gram-pozitivnih bakterij se zmanjšuje tudi emisija metana iz živalskih iztrebkov. Uporaba hmelja v prehrani prežvekovalcev ima tudi ekonomski vpliv predvsem iz vidika ekološko proizvedenega mleka; celo več, zaradi prepovedi uporabe antibiotičnih stimulatorjev rasti se danes intenzivno proučujejo alternativne snovi (probiotiki, prebiotiki in imunomodulatorji) kot dodatki v prehrani, ki bi lahko nadomestili

¹ Dr., Visoko gospodarsko učilište u Križevcima, Milislava Demerca 1, Križevci, Hrvaška, e-naslov: ssrecec@vguk.hr

² Prof., dr., Prehrambeno-biotehnološki fakultet u Zagrebu, Pierottijeva 6, Zagreb, Hrvaška, e-naslov: vzkrcpan@pbf.hr

³ Doc., dr., prav tam, e-naslov: vpetrav@pbf.hr

⁴ Prof., dr., Veterinarski fakultet u Zagrebu, Heinzelova 55, Zagreb, Hrvaška, e-naslov: mpopovic@vef.hr; klidija@vef.hr

⁵ Dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenija, Žalskega tabora 2, Žalec, Slovenija, e-naslov: andreja.cerenak@ihps.si

uporabo antibiotikov. Zaradi velikih tržnih viškov hmelja na svetovnem trgu so danes hmelj in hmeljni peleti dostopnejši kot kadarkoli prej.

Ključne besede: hmelj, hmeljne kisline, gram-pozitivne bakterije, antibiotiki, prežvekovalci

HOP (*HUMULUS LUPULUS* L.) SECONDARY METABOLITES AND POSSIBILITIES OF USING HOP IN NUTRITION OF RUMINANTS

Abstract

Hop α - and β -acids are secondary metabolites of hop whose application and function, until now, have been well known in brewing, particularly the α -acids. Despite these acids' small and insufficient effect on the productivity of dairy animals and also on the quality of the milk the animals produced, at the beginning of this century, the acids found a place in the dairy industry. It was found that the hop acids had an antibiotic effect, because they decrease the population of gram-positive bacteria and protozoa in the digestive track of ruminants. It is well known that a higher population of gram-positive bacteria in animal feed and/or on pastures causes the animals to process their feed less efficiently and even encourages infective diseases of the animal's digestive tract. In these cases, the most frequent therapy is treatment with an ionophores class of antibiotics. However, because of their specific chemical structure, hop acids have an impact equal to ionophores, with the advantage that hop pellets could be added as prophylactic hop feed. Apart from hop acid's direct effect of decreasing the population of gram-positive bacteria, it also indirectly decreases the emission of methane from animal waste. Using hops to feed ruminants also has a substantial economical impact, particularly from the aspect of organic dairy production. Moreover, today the non-clinical use of antibiotic stimulators of animal growth in intensive cattle breeding is prohibited; on the other hand, research investigating alternative matters (probiotics, prebiotics and immunomodulators) and their application as additives in animal feed has increased. In this environment and with a big surplus of hop on the world market; hops and hop pellets are more accessible than ever.

Key words: hop, hop acids, gram-positive bacteria, antibiotics, ruminants

1 UVOD

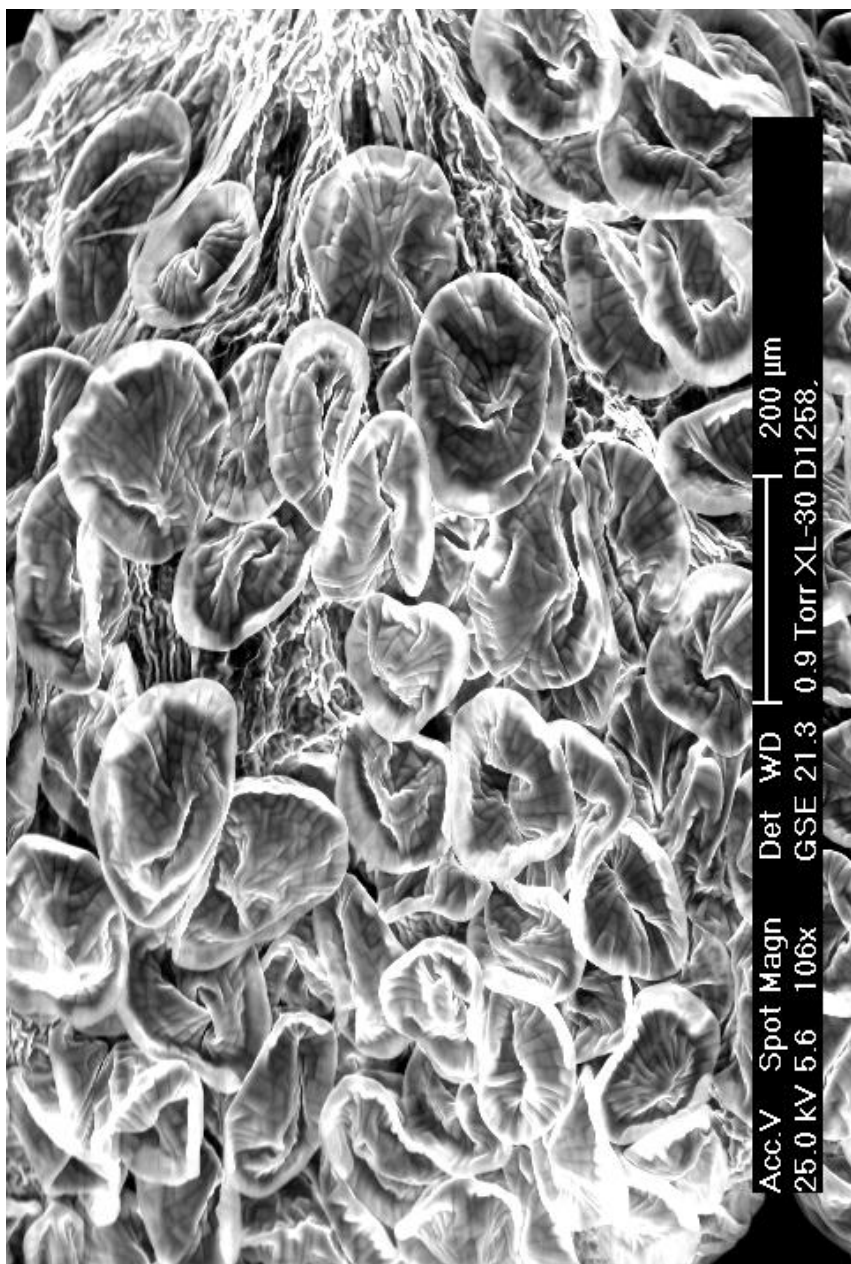
Hmelj (*Humulus lupulus* L.) je dvodomna rastlina, katere storžki oz. socvetja ženskih rastlin se uporabljajo v pivovarski industriji v postopku hmeljenja sladice s hmeljem in hmeljnimi pripravki, s ciljem doseganja zelene grenčice in arome ter prav tako z antiseptičnim učinkom v pivu (Moir, 2000). Storžki hmelja imajo namreč visoko absorpcijsko kapaciteto in so primerni za izboljšanje absorpcije določenih stranskih produktov, poleg melase in sladkornih sirupov, v prehrani ovac (Davis in Sullivan, 1927). Avtorja še navajata, da je skupna prebavljivost suhih storžkov hmelja zelo nizka. Iz obroka, v katerem je hmelj pomešan z melaso, senom in lanenim semenom, je prebavljiva le 1/5 surovih proteinov in nedušikovih ekstraktivnih snovi, 1/20 surovih vlaknin in 1/5 skupne organske mase. Potrdila sta, da proizvodni škrobni ekvivalent hmelja znaša 24,5.

Na začetku tega stoletja se je zaradi prepovedi uporabe antibiotikov začelo intenzivno raziskovanje alternativnih snovi (probiotiki, prebiotiki in imunomodulatorji) kot dodatkov hrani, ki bi naj nadomestili uporabo antibiotičnih stimulatorjev rasti. Med vsemi ostalimi alternativnimi snovmi se preiskuje tudi delovanje hmelja v prehrani prežvekovalcev in patentirane so že nekatere metode uporabe hmelja v prehrani prežvekovalcev (Maye, 2004; Benchaar in sod., 2006; Al-Mamun in sod., 2009; Flythe, 2009; Meyer in sod., 2009).

2 SEKUNDARNI METABOLITI HMEJJA

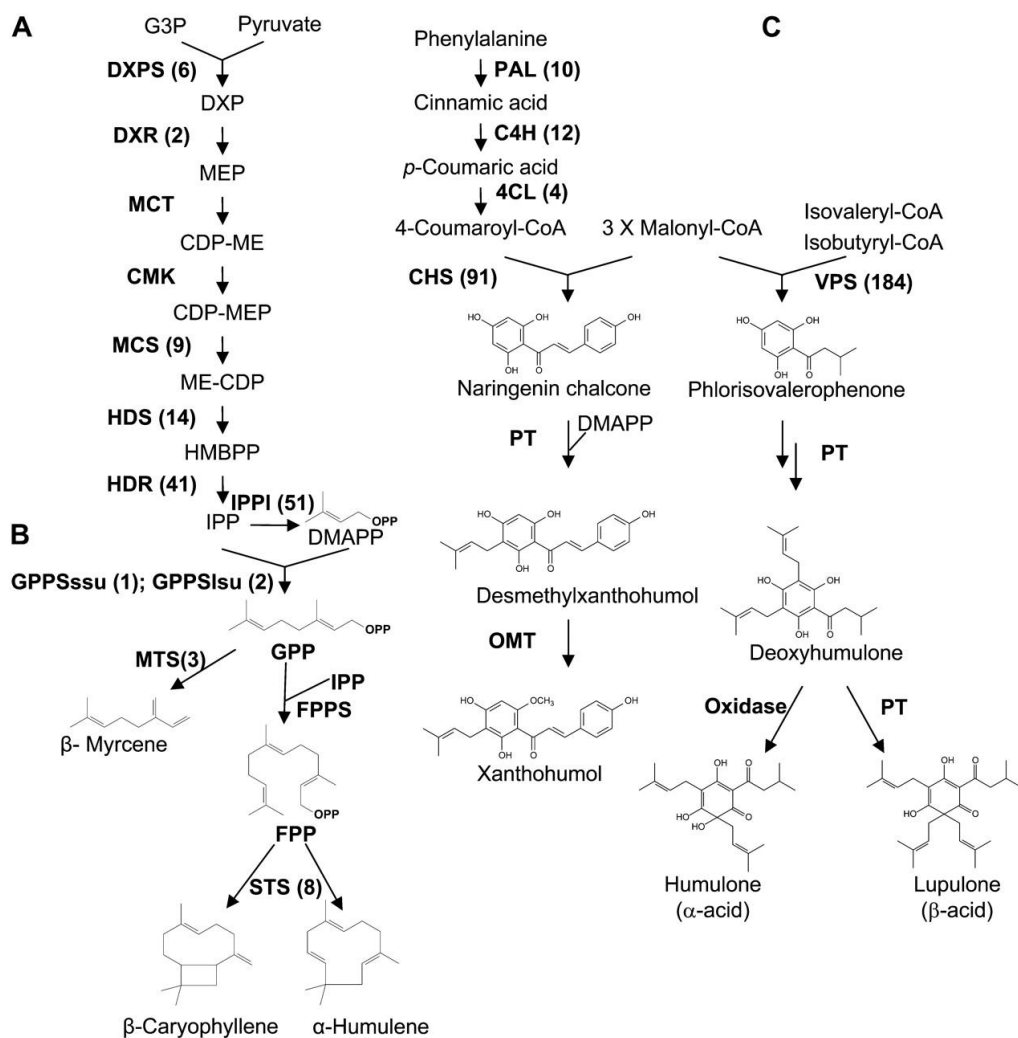
Sekundarni metaboliti hmelja so v glavnem terpenške spojine iz skupine mono- in seskviterpenov. Njihova biosinteza se prične v fazi cvetenja hmelja, takoj po formiranju braktej storžkov ali ženskih socvetij. Biosinteza vseh terpenških spojin hmelja se prične v mezofilu braktej storžkov in se zaključuje v lupulinskih žlezah (glandularnih trihomih) *ad axialne* in *ab axialne* strani braktej (Srečec in sod., 2011; 2010) v katerih se tudi akumulirajo (slika 1).

Biosinteza terpenških spojin hmelja se sestoji iz treh poti biosinteze (slika 2) v katerih se odvija tvorjenje vseh grenčin (alfa- in beta-kislina), aromatičnih snovi (eterična olja kot so: β -mircen, β -kariofilen in α -humulen), ter polifenolov in bioflavonidov (ksantohumol) (Wang in sod. 2008; Nagel in sod., 2008). Količina in delež posameznih sekundarnih metabolitov hmelja je odvisen od sorte hmelja in ekoloških vplivov med vegetacijo hmelja (Čeh in sod., 2007.; Srečec in sod., 2008.a).



Slika 1: Lupulinske žleze (peltatni žlezni trihomi) na povrhnjici brakteje storžka (Srečec in sod., 2010; 2011)

Figure 1: Lupulin glands (peltate glandular trichomes) on epidermis of hop cone bract (Srečec et al., 2010; 2011)



Slika 2: Biosintetske poti naravnih spojin v hmeljnih trihomih (Wang in sod., 2008)

A - Pot, ki vodi do biosinteze demetilalil pirofosfata (DMAPP) B - Osnovne reakcije biosinteze mono- in seskviterpenov

C - Biosinteza prenilflavonoidov in grenčic

DXPS, 1-deoksi-D-ksiluloza-5-P sintaza; DXR, 1-deoksi-D-ksiluloza-5-P reduktioizomeraza;

MCT, 2-C-metil-D-eritritol-4-P citidililtransferaza; CMK, 4-difosfocitidil-2-C-metil-D-eritritol

kinaza; MCS, 2-C-metil-D-eritritol-2,4-ciklodifosfat sintaza; HDS, 1-hidroksi-2-metil-2-(*E*)-butenil-

4-difosfat sintaza; HDR, 1-hidroksi-2-metil-2-(*E*)-butenil-4-difosfat reduktaza; IPPI, izopentil

difosfat/dimetilalildifosfat izomeraza; OMT, *O*-metiltransferaza; PT, preniltransferaza

Se nadaljuje na naslednji strani.

Nadaljevanje s prejšnje strani:

Fig. 2: Biosynthetic pathways for natural products found in hop trichomes (Wang et al., 2008)

A, The pathway leading to dimethylallyl pyrophosphate (DMAPP) biosynthesis.

B, General reactions of mono- and sesquiterpene biosynthesis.

C, Prenylflavonoid and bitter acid biosynthesis.

DXPS, 1-Deoxy-D-xylulose-5-P synthase; DXR, 1-deoxy-D-xylulose-5-P reductoisomerase; MCT, 2-C-methyl-D-erythritol-4-P cytidyltransferase; CMK, 4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol kinase; MCS, 2-C-methyl-D-erythritol-2,4-cyclodiphosphate synthase; HDS, 1-hydroxy-2-methyl-2-(E)-butenyl-4-diphosphate synthase; HDR, 1-hydroxy-2-methyl-2-(E)-butenyl-4-diphosphate reductase; IPPI, isopentenyl diphosphate/dimethylallyl diphosphate isomerase; OMT, O-methyltransferase; PT, prenyltransferase.

3 DELOVANJE SEKUNDARNIH METABOLITOV HMELJA V PREHRANI PREŽVEKOVALCEV IN V PREHRAMBENI INDUSTRIJI

Eden od največjih problemov v prehrani prežvekovalcev je proizvodnja metana, pri čemer je izguba od 2-12 % energije, kar nedvomno vodi k povečanju proizvodnih stroškov. Poleg tega so po nekaterih ocenah domače živali odgovorne za emisijo 15-20 % skupnega metana v atmosferi, s čimer živinorejska proizvodnja vpliva na globalno otopletev vremena (Maye, 2004).

Konec osemdesetih let prejšnjega stoletja so bili objavljeni prvi rezultati večletnih poskusov, izvedenih z uporabo tehnike simulacije vampa (Rusitec), v katerih so preverjali delovanje hmeljnih pripravkov v zmesih s stisnjenimi jabolki in senom na fermentacijo v vampu in na proizvodnjo metana (Krishna in sod., 1986). V teh poskusih je bilo potrjeno, da hmeljni peleti kot tudi hmeljni ekstrakti, dobljeni z ekstrakcijo z metilenkloridom, v mešanici sena in stisnjenih plodov jabolk statistično značilno zmanjšujejo produkcijo metana. Z *in vitro* poskusi je bilo potrjeno, da imajo hmeljne kisline (alfa- in beta- kisline) antibakterijski učinek, ki zmanjšuje rast bakterij z zniževanjem pH vrednosti medija, pri čemer večji učinek kažejo beta-kisline v primerjavi z alfa-kislinami.

Z dodajanjem 1,25 mg beta-kislin/kg ječmena se zmanjšuje skupna produkcija plinov pri kravah za približno 40 %, medtem ko ista količina beta-kislin/kg lucerne zmanjšuje produkcijo plinov za približno 30 % (Maye, 2004). Poleg tega je dokazano, da z dvigom porabe beta-kislin raste tudi količina propionata. Količina propionata se lahko poveča tudi do 97 %, kar deluje pozitivno na rast živali, vendar se pri tem zmanjšuje količina butirata lahko tudi do 84 %. Kljub temu, da butirata deluje pozitivno na zdravstveno stanje črevesja, ga lahko gram-pozitivne bakterije, kot npr. *Metizano bacterium ruminantim*, v primeru njegove velike produkcije med

fermentacijo v vampu, pretvorijo v metan, kar vodi v izgubo energije. Poleg tega se lahko s pravilnim doziranjem beta-kislin zmanjša populacija gram pozitivnih bakterij v vampu (kot sta *Rumifaococcus albus* in *R. flavefaciens*), medtem ko se istočasno kontrolira populacija bakterij *Butyrivirio fibrisolvefs*, ki so odgovorne za produkcijo butirata (Maye, 2004).

V laboratorijskih poskusih so potrdili, da nedisociirane molekule hmeljnih kislin močno vplivajo na inhibicijo rasti populacije *Lactobacillus brevis* IFO 3960 in to v širokem razponu pH vrednosti od 4-7. Pri tem je antibakterijska aktivnost odvisna tudi od stopnje izomerizacije hmeljnih kislin. Tako imajo trans-izo-alfa-kislina približno 20-krat večji antibakterijski učinek v primerjavi z neizomeriziranimi alfa-kislinami (Simpson in Smith, 1992). Poleg tega imajo heksa-hidro-izo-alfa-kislina tudi antibakterijski učinek na mikroorganizme, ki kontaminirajo hrano in povzročajo zastrupitve, kot so *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus* in enteropatogena *Escherichia coli*. S čiščenjem delovnih površin in strojev v prehrabeni industriji z raztopino heksa-hidro-izo-alfa-kislinami se doseže antiseptični učinek brez uporabe kemičnih dezinfikatorjev. Glede na to, da se heksa-hidro-izo-alfa-kislina uporabljajo v hmeljnih pripravkih, kot so izomerizirani hmeljni ekstrakt in le-ti za hmeljenje pivske sladice v tehnološkem postopku proizvodnje piva, ne obstaja nobena nevarnost za zdravje delavcev v prehrabeni industriji in potrošnikov prehrabnih proizvodov (Maye in Nielson, 2005).

Čprav obstaja določeno število raziskav o vplivu eteričnih olj na mikroorganizme in fermentacijo v vampu, na metabolizem proteinov in na proizvodnjo mleka (McIntosh in sod., 2003; Bencher in sod., 2006; Calsamiglia in sod., 2007; Castillejos in sod., 2007; Meyer in sod., 2009), vpliv hmeljnega eteričnega olja na fermentacijo v vampu še vedno ni pojasnjen.

4 MOŽNOSTI UPORABE HMELJA V PRIHODNJE

Uporaba hmelja v prehrani prežvekovalcev ima tudi velik ekonomski značaj predvsem iz vidika ekološko proizvedenega mleka, zmeraj bolj pa zaradi prepovedi uporabe antibiotskih regulatorjev rasti (Regulativa 1831/2003/EC). Tako se danes intenzivno proučujejo alternative (probiotiki, prebiotiki in imunomodulatorji) kot dodatki v prehrani, ki bi morali nadomestiti uporabo antibiotskih regulatorjev rasti.

Zaradi globalnega trenda po zmanjševanju grenčic v pivu, in posledično tudi po zmanjševanju deleža hmelja v pivovarski industriji ter da so zaloge hmelja v zadnjih 3-4 letih večje kot kadarkoli prej v zgodovini hmeljarstva (Srečec in sod., 2009.) je razmišljanje o alternativni uporabi hmelja zelo zanimivo. Na trgu s

hmeljem je še vedno na razpolago hmelj ali hmeljni peleti prejšnjih letnikov proizvodnje, in sicer po zelo ugodni nabavni ceni. S staranjem hmelja prihaja do padca odstotka alfa-kislin, kar znižuje njegovo pivovarsko vrednost, vendar pa delež beta-kislin ostaja s staranjem, v pogojih brez kisika, nespremenjen (Srečec in sod., 2008.b; Virant in Majer, 2003), kar je zelo pomembno v povezavi z njihovim učinkom na mikroorganizme in fermentacijo v vampu (Maye, 2004).

Ker so količine dodanih čistih beta-kislin v zmesih z žitaricami in stročnicami zelo nizke in predstavljajo končno le 1,25 mg/kg krmil (Maye, 2004), hmelj ne predstavlja visok strošek v prehrani živali. Na primer, povprečni vzorec hmelja sorte Aurora (letnik 2011) vsebuje 4,2 % beta-kislin v zračno suhem vzorcu, kar pomeni, da je s 100 mg hmeljnih briketov možno pripraviti približno 5,25 kg krmil.

V prehrani živali se lahko hmelj uporablja v obliki hmeljnih briketov, pripravljenih predhodno pred mešanjem z ostalimi komponentami krmila in/ali v obliki ekstrudata skupaj z ostalimi komponentami krmil. Seveda pa je pri vsem tem nujno raziskati vse prednosti in slabosti posamičnih tehnoloških rešitev.

5 VIRI

- Al-Mamun, M., Goto, K., Chiba, S., Sano, H. (2009.): Responses of plasma acetate metabolism to hop (*Humulus lupulus* L.) in sheep. *International Journal of Biological Sciences* 5, 287-292.
- Bencher, C., Petiti, H. V., Berthiaume, R., Whyte, T. D., Chouinard, P. Y. (2006): Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89, 4352-4364.
- Davis, W. L., Sullivan, R. S. (1927): The nutritive value of dried spent hops. *The Journal of Agricultural Science* 17, 380-387.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L., Ferret, A. (2007): Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science* 90, 2580-2595.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A., Losa, R. (2007): Effects of dose and adaptation time of specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* 132, 186-201.
- Čeh, B., Kač, M., Košir, I. J., Abram, V. (2007): Relationships between xanthohumol and polyphenol content in hop leaves and hop cones with regard to water supply and Cultivar. *International Journal of Molecular Sciences* 8, 989-1000.
- Krishna, G., Czerkawski, J. W., Breckenridge, G. (1986): Fermentation of various preparations of spent hops (*Humulus lupulus* L.) using rumen simulation technique (Rusitec). *Agricultural Wastes* 17, 99-117.
- McIntosh, F. M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R. J., Beever, D. A., Newbold, C. J. (2003): Effects of essential oils on ruminal microorganisms and protein metabolism.

- Applied and Environmental Microbiology* 69, 5011-5014.
- Maye, J. P., Nielson, P. (2005): The use of hop acids as an antimicrobial agent to sanitise food processing facilities. *World Intellectual Property Organization, International Application Published Under the Patent Cooperation Treaty (PCT)*, 2004110505 A1.
- Maye, J. P. (2004): Hop acids as replacement of antibiotics in animal feed. *World Intellectual Property Organization, International Application Published Under the Patent Cooperation Treaty (PCT)*, WO 2004/026041 A1.
- Meyer, N. F., Erickson, G. E., Klopfenstein, T. J., Greenquist, M. A., Luebe, M. K., Williams, P., Engstrom, M. A. (2009): Effect of essential oils, tylosin, and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation, and digestibility. *Journal of Animal Science* 87, 2346-2354.
- Moir, M. (2000): Hops: a millennium review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 58, 131-146.
- Nagel, J., Culley, L. K., Lu, Y, Liu, E., Matthews, P.D., Stevens, J. F., Page, J. E. (2008): EST Analysis of hop glandular trichomes identifies an O-methyltransferase that catalyzes the biosynthesis of xanthohumol. *The Plant Cell* 20, 186-200.
- Simpson, W. J., Smith, A. R. W. (1992): Factors affecting antibacterial activity of hop compounds and their derivatives. *Journal of Applied Bacteriology* 72, 327-334.
- Srećec, S., Kvaternjak, I., Kaučić, D., Špoljar, A., Erhatic, R. (2008a): Influence of climatic conditions on accumulation of α -acids in hop cones. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 73, 161-166.
- Srećec, S., Rezić, T., Šantek B., Marić, V. (2008b): Influence of hop pellets age on α -acids utilization and organoleptic quality of beer. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 73, 103-107.
- Srećec, S., Zechner-Krpan, V., Petravić-Tominac, V., Srećec, V., Marić, K. (2009): Needs of hop production restructuring by using medical characteristics of hop in modern brewing and pharmacology. *Hop Bulletin* 16, 53-64.
- Srećec, S., Zechner-Krpan, V., Petravić-Tominac, V., Mršić, G., Špoljarić, I., Marag, S. (2010): ESEM comparative studies of hop (*Humulus lupulus*) peltate and bulbous glandular trichomes structure. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 75, 145-148.
- Srećec, S., Zechner-Krpan, V., Marag, S., Špoljarić, I., Kvaternjak, I., Mršić, G. (2011): Morphogenesis, volume and number of hop (*Humulus lupulus* L.) glandular trichomes, and their influence on alpha-acid accumulation in fresh bracts of hop cones. *Acta Botanica Croatica* 70, 1-8.
- Virant, M., Majer, D. (2003): Hop storage index – indicator of brewing quality. *Proc. of IHGC Technical Commission, Sofia*, <http://www.czhops.cz/tc>.
- Wang, G., Tian, L., Aziz, N., Broun, P., Dai, X., He, J., King, A., Zhao, P. X., Dixon R. A. (2008): Terpene biosynthesis in glandular trichomes of hop. *Plant Physiology* 148, 1254-1266.

PRP PRODUCTS IN HOP PRODUCTION – IMPACT ON SOIL AND YIELD

Barbara ČEH⁶, Benoit LE RUMEUR⁷

UDC / UDK 633.791:631.559:631.8(045)
original scientific article / izvirni znanstveni članek
received / prispelo: 21. 10. 2011
accepted / sprejeto: 1. 12. 2011

Abstract

The aim of the research was to investigate the long-term impact of PRP products on soil and the yield of hops, and to investigate its quality compared to conventional PK fertilisation. The experiment was conducted as a block trial in three replications on the experimental field of Slovenian Institute for Hop Research and Brewing in 2006. Results were collected from 2006 to 2011. In the control (PK), conventional fertilization by P and K according to the soil analysis was performed; no foliar fertilisation was included. At the treatments 200-PRP and 400-PRP, no P and K fertilization was performed; 200 kg/ha and 400 kg/ha yearly PRP SOL was applied, respectively; 2 l/ha of foliar PRP EBV were sprayed four times in the season. In 2010, higher porosity and higher biological activity, deeply developed (over 80 cm) and decreasing from the top to the bottom of the soil, was detected at the 400-PRP treatment compared to the PK treatment. At the PK treatment, the root system was developed until 45 cm; at the 400-PRP treatment until 1.3 m. At the depth of 25 cm, a compact layer of white-coloured soil was detected at PK, while not at the 400-PRP treatment. The significant impact of the 400-PRP treatment on the yield of hops and its quality was not detected until 2011.

Key words: hops, *Humulus lupulus* L., PRP SOL, PRP EBV, yield, alpha acid content, soil

⁶ PhD, Slovenian Institute of Hop Research and Brewing / Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenia, e-mail: barbara.ceh@ihps.si

⁷ BSc., PRP Technologies, BP 46 – 33Av du Maine, 75755 Paris Cedex, France, e-mail: blerumeur@prp.fr

PROIZVODI PRP V PRIDELAVI HMELJA – VPLIV NA TLA IN PRIDELEK

Izveček

Cilj raziskave je bil raziskati dolgoročni vpliv proizvodov PRP na tla in pridelek ter kakovost hmelja v primerjavi s konvencionalnim gnojenjem s PK. Poskus je bil postavljen kot bločni poljski poskus v treh ponovitvah na eksperimentalnem polju Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije v letu 2006. Predstavljeni so rezultati med letoma 2006 in 2011. Pri kontroli (PK) smo konvencionalno gnojili s P in K glede na rezultate analiz tal, foliarnih gnojil nismo uporabljali. Pri obravnavanjih 200 PRP in 400 PRP smo letno potrosili po 200 oziroma 400 kg/ha PRP SOL in štirikrat v sezoni škropili s 2 l/ha PRP EBV. V letu 2010 smo zasledili večjo poroznost in večjo biološko aktivnost v tleh pri 400 PRP v primerjavi s PK. Biološka aktivnost je bila globlje v tleh (do globine 80 cm), s tem da se je od vrha proti globini zmanjševala. Pri PK je bil zaznan koreninski sistem do globine 45 cm, pri 400 PRP do globine 1,3 m. Na globini 25 cm je bilo zaslediti zbit sloj bele barve pri PK, pri 400 PRP tega ni bilo zaslediti. Kljub razlikam v tleh pa ni bilo statistično značilnega vpliva proizvodov PRP na pridelek hmelja in njegovo kakovost.

Ključne besede: hmelj, *Humulus lupulus* L., PRP SOL, PRP EBV, pridelek, vsebnost alfa kislin, tla

1 INTRODUCTION

In Slovenia, hops are growing on approximately 1500 ha, mainly in the gravelly soil along the river Savinja, which is often shallow and skeletal (Knapič in Simončič, 2007). Due to changing climatic conditions, agrotechniques in such conditions should be adjusted in a way so that they will be efficient, sustainable and focused on the principles of environmental protection. Among these measures, improving soil characteristics is very important.

The aim of the research was to investigate the long-term impact of PRP products on soil and the yield of hops, and its quality compared to conventional phosphorus (P) and potassium (K) fertilisation.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Experiment layout

The experiment was conducted as a block trial in three replications on the experimental field of Slovenian Institute of Hop Research and Brewing on 3000 m² in 2006. The experiment was continued at the same plots until 2011. The size of one plot was 350 m².

The experiment was conducted in a hop field on eutric brown soil with sandy-gravel, middle deep, loam-clay loam texture, with common soil content of P and K for hop gardens in Slovenia (P₂O₅ content in class D [33.0 mg/100 g DM soil], K₂O content in class C [29.0 mg/100 g DM soil], 2.5% organic matter). The research was done with cultivar Hallertauer Magnum.

Treatments:

- PK: Control – conventional fertilization by P and K according to the soil analysis; no foliar fertilisation.
- 200 PRP: No P and K fertilization; 200 kg/ha yearly PRP SOL in spring or autumn plus 2 l/ha of foliar PRP EBV four times in the season; in 2006, 2007 and 2008 at each second foliar treatment with fungicides, first time straight after winding up sprouts; in 2009 and 2011 after winding up sprouts (May 2), intensive growth (June 10), beginning of flowering (June 28) and at cones development (July 19); in 2010 no use.
- 400 PRP: No P and K fertilization; 400 kg/ha yearly PRP SOL in spring or autumn plus 2 l/ha of foliar PRP EBV the same time as at the treatment 200 PRP.

All the other agrotechnical arrangements (except P and K fertilisation) were the same for all plots according to good agricultural practises. Spraying was performed according to the spraying program. Nitrogen fertilisation was performed in three splits (50 kg/ha N + 80 kg/ha N + 50 kg/ha N as ammonium nitrate; 20 May, 10 June, 5 to 10 July, respectively). There was no other fertilisation except delineated.

2.2 Tested variety and fertilization products

Cultivar Hallertauer Magnum is a product of the Hop Research Centre in Hüll with high yields and strong growth. It is a high alpha variety, expressing medium resistance to *Verticillium* wilt (*Verticillium albo-atrum*; lethal pathotype PG2), high resistance to downy mildew (*Pseudoperonospora humuli*) and susceptibility to powdery mildew (*Sphaerotheca humuli*). It is a medium-late to late variety with good storage stability and average yield of 2000 kg/ha (CMA catalogue, 2008).

PRP SOL is a pellet made up of a matrix of calcium and magnesium carbonates and technological Mineral Inducer Process (MIP) additives (iron, zinc, boron, sodium, manganese, etc.), agglomerated by the soluble plant-based binder lignosulphonate. PRP SOL is expected to effect the functioning of microbial communities in the soil and the diversification of the profile of enzymatic activities. It should impact all the biological, physical and chemical parameters of the soil ecosystem.

PRP EBV is a physio-stimulant of the plants' vital functions, based on a mineral nutritive solution (sodium, magnesium, sulphur, manganese, boron etc.). PRP EBV is the most efficient when applied as close as possible to key physiological stages and episodes of physical, chemical or climatic stress. In these conditions, PRP EBV is expected to develop the expression of the plant's genetic potential.

2.3 Measurements

In the research, the following characteristics were detected and measured:

- 2006: yield, alpha acid content in hop cones, accessible P and K in the soil after harvest;
- 2007 and 2008: yield and alpha acid content in hop cones;
- 2009: soil analysis in March and after harvest, Nmin in soil (on May 20, July 1 and after harvest), yield, and alpha acid, nitrate and oil content in hop cones;
- 2010: 1.5 m-deep soil profile was dug in order to measure root depth and density, quality of the organic matter by soil layers and soil biological activity;
- 2011: pH of the soil and plant-available quantity of P and K in spring, yield and alpha acid content in hop cones.

Growth and development was observed one to two times a week, plot by plot. Average height of plants per plot was measured and growth stage per plot was noted.

Analyses of pH and accessible P and K in soil were done on samples of the upper layer of the soil (0-25 cm). Soil analyses of pH and available nutrient content were performed according to Al analyse (pH, P₂O₅, K₂O); Nmin in soil according to DIN/EN (1998).

In summer 2010, soil profiles were dug at plot PK and plot 400 PRP in the inner block. Analyses of soil on soil profiles were done according to Guide Méthodologique du profil cultural (Manichon and Gautronneau, 1997).

For the yield evaluation, the middle two rows of hops were harvested (90 m²), number of plants and number of strings per plot were counted and length of plots

was measured. The hops were manually harvested plot by plot in the field; cones were harvested by harvester Wolf WS 2000 afterwards, each year at the time of technological maturity. Yield per plot was weighted and samples of cones for moisture content and other analyses were taken.

Determination of the moisture, alpha-acid and essential oils content was performed using standard Analytica-EBC methods 7.2, 7.7, 7.10 and 7.12 (Analytica-EBC 2007). Nitrate content in hop cones was measured according to DIN/EN 12014-7:1998 method.

Results were statistically processed by the computer programs Excel and Statgraphics; differences among treatments were detected by Duncan multiple range test ($p < 0.05$).

2.4 Weather conditions

The average temperature from the beginning of April to the end of August 2006 (growth season) was 17.2° C, there was 670 mm of precipitation. There were relatively low temperatures in spring and at the beginning of August 2006, and very high temperatures in July. Spring was wet and cold, and there was a large amount of precipitation in the beginning of June.

The average temperature in growth season 2007 was 18.2° C, which is almost two degrees higher than the long-term average. In addition to above-average temperatures, there were high temperature oscillations. There was 473 mm of precipitation, 116 mm less than the long-term average.

The average temperature in the growth season of 2008 was 16.4° C, which is one degree higher than the long-term average. In the last ten days of June, extremely high temperatures were recorded. There was 713 mm of precipitation in the growth season, which is 124 mm more than the long-term average. Many times it rained in showers and storms that were accompanied by hail.

The average temperature in the growth season of 2009 was 18.1° C, there was 540 mm of precipitation. In May 2009 there were relatively high temperatures, which decreased suddenly at the end of the month. Compared to the long-term average, there was more precipitation in June (174 mm) and at the beginning of July. At the beginning of August there were relatively high temperatures.

The average temperature in the growth season of 2010 was 17.7° C, there was 398 mm of precipitation. In all the decades of hops growing seasons, in 2010 (until the end of July) there was less rainfall compared to the long-term average and temperatures were above average.

Almost throughout the growth season of 2011, higher temperatures than the long-term average were recorded. There was 413 mm of rainfall, which is 173 mm less compared to the 40-year average. Precipitation quantity in almost all decades was lower compared to the long-term average.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Growth and development

In the first year (2006), growth of plants was faster in June in the 400-PRP treatment compared to the plants of the other two treatments. Also, the final height was the highest at the 400-PRP treatment (plant height was approximately 6.5 m at the treatments PK and 200-PRP and more than 7 m at the 400-PRP treatment). Treatments with PRP (200-PRP and 400-PRP) started to bloom four days sooner compared to treatment PK, while all three treatments completed the stage of blooming at the same time. PRP fertilization caused hop cones to start to ripen sooner compared to the PK treatment (and sooner at the higher PRP rate, which was 400 PRP). At the time of harvest, on 4 September 2006, plants at all variants were mature. Because 400 PRP showed difference in growth compared to the other two treatments in June and not in the yield, it was suggested to perform PRP SOL application in autumn for the next season, not just in the spring.

Plant growth and development was measured again in 2009. At that time there were no important differences in plant growth and development among treatments. Plants of the treatment 400 PRP were approximately 20 cm higher compared to the plants of the treatments PK and 200 PRP during May and June. At the end of the season, all plants were at the top of the hop trellis.

3.2 Soil analyses

After harvest in 2006, accessible P_2O_5 content in soil stayed in class D and accessible K_2O content stayed in class C, as it was in the spring that year (Table 1). At the end of the growth season of 2006, lower pH values were detected at all three treatments compared to spring. There was no detectable difference among treatments.

In 2009 at the start of the season and after the harvest, plant-available nutrient content, total nutrient content and pH value were analysed again (Table 2). At harvest, a lower pH value was detected in the soil of treatment 400 PRP compared to PK and 200 PRP. There were no big differences among treatments in the total nutrients content, with exception of total quantity of Ca, which was higher at the treatment 200 PRP compared to PK and 400 PRP. At PK, where P and K

applications were made each spring, there was a higher content of plant-available P and K in the upper layer of the soil (0-25 cm) after harvest compared to 200 PRP and 400 PRP. Plant available Mg and CaO were higher at 200 PRP compared to PK and 400 PRP.

Table 1: P₂O₅, K₂O content and pH value in the upper layer of the soil (0-25 cm) at the end of the 2006 season with regard to the treatment

Preglednica 1: Vsebnost P₂O₅ in K₂O v zgornjem sloju tal (0-25 cm) in vrednost pH tal po koncu sezone v letu 2006 glede na obravnavanje

Depth (cm)	Treatment	pH in KCl	pH in Ca-acetat	P ₂ O ₅ * mg/100 g soil	K ₂ O* mg/100 g soil
0-25	PK/1	5.0	6.4	22.0 C	24.5 C
0-25	PK/2	5.2	6.4	28.0 D	30.1 C
0-25	PK/3	5.8	6.6	45.0 E	38.7 D
0-25	200/1	5.1	6.4	23.0 C	23.2 C
0-25	200/2	5.2	6.5	26.0 D	24.9 C
0-25	200/3	5.4	6.5	34.0 D	24.1 C
0-25	400/1	5.3	6.4	28.0 D	23.1 C
0-25	400/2	5.4	6.5	30.0 D	24.9 C
0-25	400/3	5.3	6.5	26.0 D	20.2 C

*C: well supplied, D: over supplied, E: extreme supplied

Table 2: Plant-available content of nutrients in the upper layer of the soil (0-25 cm), total nutrient content and pH value after the harvest in 2009 (in soil dry matter)

Preglednica 2: Rastlinam dostopna količina hranil v zgornjem sloju tal (0-25 cm), skupna količina hranil in vrednost pH tal po obiranju v letu 2009 (na suho snov v tleh)

	Unit	PK	200 PRP	400 PRP
pH v KCl	-	6.2	6.6	5.7
Total P	%	0.10	0.10	0.09
Total K	%	0.23	0.23	0.20
Total Mg	%	0.40	0.44	0.38
Total N	%	0.17	0.17	0.18
Total Ca	%	0.45	0.75	0.41
Plant available P ₂ O ₅	mg/100 g	33.5	27.5	26.4
Plant available K ₂ O	mg/100 g	25.4	17.4	13.3
Plant available Mg	mg/100 g	21.6	31.6	20.9
Plant available CaO	%	0.59	0.84	0.54

At the start of the 2011 season, compared to the data from 2006, plant-available phosphorus content in soil stayed at the same level at treatments 200 PRP and 400 PRP and increased a bit at the treatment PK (Table 3). Plant-available potassium content decreased at all treatments, more at the treatments with PRP.

Table 3: Plant-available content of P and K in soil (0-25 cm) and pH value in spring 2011 with regard to treatment

Preglednica 3: Rastlinam dostopna količina hranil P in K v tleh (0-25 cm) in vrednost pH tal spomladi 2011 glede na obravnavanje

	<i>Enota / Unit</i>	PK	2 PRP	3 PRP
pH v KCl	-	6.3	6.5	6.2
Plant available P ₂ O ₅	mg/100 g	38	35	34
Plant available K ₂ O	mg/100 g	26	23	21

*At all plots soil is well-supplied by K₂O (class C) and oversupplied by P₂O₅ (class D).

3.3 Nmin in soil

Nmin in soil was measured in 2009. There was a relatively low quantity of plant-available nitrogen in the upper layer of soil (0-25 cm) especially in the beginning of July, before third N fertilization. The explanation is that the experiment was conducted on shallow soil with a relatively high content of particles bigger than 2 mm (skeleton), and there was a high quantity of precipitation in June. The highest Nmin content in the beginning of July was at the 200-PRP treatment.

After harvest there was less than 50 kg/ha Nmin content in the upper layer of soil (0-25 cm) at all treatments (Figure 1).

3.4 Soil profile measurements

The development of the root system is connected with the disponibility of oxygen. The strength and deepness of the root system is a good indicator of the evolution of the soil porosity created by the biological activity (Weill, 2008). In the control plot (PK), the root system was developed up to 45 cm, and on the 400-PRP plot the depth of the roots was much greater (up to 1.3 m) (Table 4). Deep development of the root system ensures access to water and minerals to plants directly from the soil. At a depth of 25 cm, a white-coloured, compacted layer of soil was detected at the PK treatment. Analyses confirmed it was calcium carbonate. There was no such layer detected at the 400-PRP treatment.

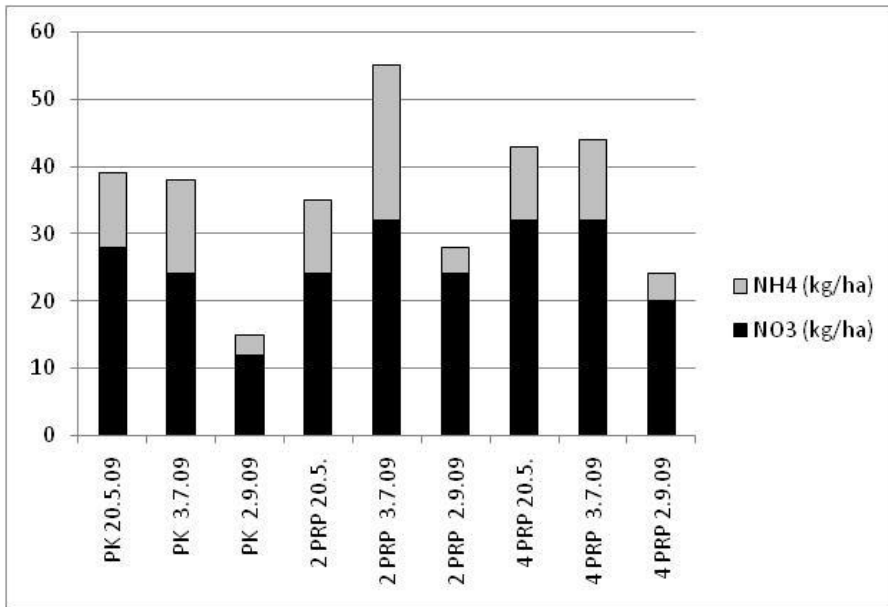


Figure 1: Plant-available N (ammonium and nitrate) quantity in top soil (0-25 cm) with regard to sampling date (May 15, July 3, September 2) in the year 2009 and treatment (PK, 200 PRP, 400 PRP)

Slika 1: Količina rastlinam dostopnega dušika (amonijska in nitratna oblika) v zgornjih 25 cm tal glede na datum vzorčenja v letu 2009 (15. maj, 3. julij in 2. september) in obravnavanje (PK, 200 PRP, 400 PRP)

Table 4: Depth of main roots, biological activity and quality of the organic matter on the control plot (PK) and on 400 PRP plot in 2010

Preglednica 4: Globina koreninskega sistema, biološka aktivnost in kakovost organske snovi v tleh kontrolne parcele (PK) in parcele 400 PRP v letu 2010

Soil layer	Depth of roots		Biological activity		Quality of the organic matter	
	PK	400 PRP	PK	400 PRP	PK	400 PRP
25-0 cm	+++	-	++	+++	+	+++
0-50 cm	++	+++	+	++	-	++
50-80 cm	-	++	-	++	-	+
80 cm and deeper	-	++	-	+	-	-
The deepest roots	45 cm	1.3 m				

Legend: - : lacking, + : low level, ++ : average level, +++ : high level

On the control plot (PK), biological activity was detected in a medium level in the upper 50 cm of soil including the mound. On the 400 PRP plot biological activity was deeply developed (over 80cm), decreasing from the top to the bottom of the soil (Table 4).

The better the quality of the organic matter, the higher possibility it has to be oxidized (Mustin, 1987). On the control plot, the quality of the organic matter was low even in the mound (Table 4). On the 400-PRP plot, the quality of the organic matter was higher. It was decreasing from the top to a depth of 80 cm (Table 4).

3.5 Yield and alpha acid content

In 2006 there was not a significant difference between the yield of hop cones and the yield of alpha acids of the treatments PK and 400-PRP (Table 5). 200-PRP treatment reached a statistically lower yield compared to the treatment PK, what could be the consequence of agrotechnique before the conduction of the experiment. There was not a statistically significant difference in alpha acid content among treatments. Consequently, the treatment 200 PRP reached a statistically lower yield of alpha acid per hectare compared to the treatment PK, even if the alpha acid content in hop cones was indicated to be higher.

In the second season (2007), the higher yield was —contrary to the first season— indicated at the 200-PRP treatment, but the differences among treatments could not be statistically confirmed (Table 5).

There were no significant differences among treatments in the yield of cones, yield of alpha acids and alpha acid content in 2008 and 2009 (Table 6).

Table 5: Yield of hop cones, alpha acid content and alpha acid yield in 2006 and 2007

Preglednica 5: Pridelek hmelja, vsebnost alfa kislin in pridelek alfa kislin v letih 2006 in 2007

Treatment	2006			2007		
	Yield (kg/ha DM)	Alpha acid (% in DM)	Alpha acid (kg/ha)	Yield (kg/ha DM)	Alpha acid (% in DM)	Alpha acid (kg/ha)
PK	1903 b	11.8 a	223 b	949 a*	11,2 a	104 a
200 PRP	1472 a*	12.2 a	181 a	1209 a	10,7 a	129 a
400 PRP	1672 ab	11.6 a	194 ab	1077 a	11,8 a	127 a

* The same letter in a column indicates that there is no significant difference between treatments according to Duncan test ($p=0.05$)

Table 6: Yield of hop cones, alpha acid content and alpha acid yield in 2008 and 2009

Preglednica 6: Pridelek hmelja, vsebnost alfa kislin in pridelek alfa kislin v letih 2008 in 2009

Treatment	2008			2009		
	Yield (kg/ha DM)	Alpha acid (% in DM)	Alpha acid (kg/ha)	Yield (kg/ha DM)	Alpha acid (% in DM)	Alpha acid (kg/ha)
PK	2228 a*	14.6 a	328 a	1599 a	13.5 a	217 a
200 PRP	2107 a	15.0 a	315 a	1385 a	12.0 a	167 a
400 PRP	1994 a	14.3 a	285 a	1373 a	12.4 a	171 a

* The same letter in a column indicates that there is no significant difference between treatments according to Duncan test ($p=0.05$)

In spite of differences detected in the soil in summer 2010, there were no significant differences in the yield of hops and alpha acid content in hop cones in 2011 among treatments (Table 7). We assume that the low precipitation amount in summer months had an impact on lower absorption of nutrients from soil at all treatments.

Table 7: Yield of hop cones, alpha acid content and alpha acid yield in 2011

Preglednica 7: Pridelek hmelja, vsebnost alfa kislin in pridelek alfa kislin v letu 2011

Treatment	2011		
	Yield (kg/ha DM)	Alpha acid (% in DM)	Alpha acid (kg/ha)
PK	1611 a	11.3 a	182 a
200 PRP	1542 a	10.9 a	163 a
400 PRP	1633 a	11.3 a	183 a

3.6 Nitrate and essential oil content in hop cones

There were no significant differences among treatments in nitrate content or in oil content in cones in 2009 (Table 8).

Table 8: Nitrate and essential oil content in hop cones in 2009
 Preglednica 8: Vsebnost nitratov in olj v storžkih v letu 2009

	Nitrate content (mg/100 g DM)	Essential oil content (ml/100 g DM)
PK	574 a*	3.64 a
200 PRP	899 a	2.97 a
400 PRP	836 a	3.42 a

* The same letter in a column indicates that there is no significant difference between treatments ($p=0.05$).

4 CONCLUSIONS

The use of PRP products at the 400-PRP treatment increased the biological activity of soil that had been developed and at the same time increased the porosity of the soil. This modification of the soil structure from 2006 to 2011 encouraged oxygen and roots to penetrate deeper, so the capacity of the plant to resist different stresses is expected to be increased.

The significant impact of 400 PRP on the yield of hops and its quality was not detected until 2011. The impact was not expected in the first years, because hops are a perennial plant, and 2011 was dry during the summer months, which probably prevented the absorption of nutrients at all treatments.

The investigation should continue in the next seasons in order to accompany hop yield and alpha acid content in seasons with different precipitation distribution. As detected visually and with measurements in soil profiles in 2010, plants should be more able to absorb nutrients and water from deeper layers when using the 400-PRP treatment compared to control treatment (PK).

5 REFERENCES

- Analytica EBC (1998): Method for moisture detection, 7.2
 Analytica EBC (2000): Method KVH-TE, 7.4
 Analytica-EBC/. Section 7 – Hops, Methods 7.2, 7.7, 7.10, 7.12; Carl, Getränke-Fachverlag, Nürnberg, 2007.
 CMA. Catalogue. CMA Centrale Marketing-Gesellschaft der Deutschen Agrarwirtschaft mbH, Bonn, Germany; 2008
 DIN/EN (1998): Bestimmung des Nitrat- und /oder Nitrite gehaltes EN 12014-7:1998

DIN/EN 12014-7:1998

Knapič, M., Simončič, A. Primerjava ocen izpiranja izbranih fitofarmaceutskih sredstev s FOCUS modeloma PELMO in PEARL na srednje globokih evtričnih rjavih tleh v Savinjski dolini. Hmeljarski bilten, 14; 2007: 55-61

Mustin M. Le compost: gestion de la matière organique. Toulouse University; 1987: 913 p.

Sušin J., Kmecl V. Navodila za uporabo RQ-flexa. Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana; 2000: 14 p.

Weill A. Guide des profils de sol agronomiques: un outil de diagnostic de l'état des sols cultivés. CRRAQ Québec; 2008: 13 p.

CHARACTERISATION OF SLOVENIAN HOP (*Humulus lupulus* L.) VARIETIES BY ANALYSIS OF ESSENTIAL OIL

Andreja ČERENAK⁸, Martin PAVLOVIČ⁹, Monika OSET LUSKAR¹⁰,
Iztok Jože KOŠIR¹¹

UDC / UDK 633.791:665.52:543.635(045)

original scientific article / izvorni znanstveni članek

received / prispelo: 10. 10. 2011

accepted / sprejeto: 29. 11. 2011

Abstract

The Slovenian hop is known in Slovenia and internationally for its fresh, hoppy aroma. The aim of this research was to characterize our four hop varieties - Savinjski golding, Aurora, Dana, 31/299 and breeding line A6/58 based on compounds of essential oils which give a distinctive type of odour. This preliminary study revealed that all the varieties included have a similar type of odour.

Key words: hop, essential oil, characterization, odour

**KARAKTERIZACIJA SLOVENSКИH SORT HMELJA
(*Humulus lupulus* L.) Z ANALIZO ETERIČNEGA OLJA**

Izvleček

Slovenski hmelj je poznan v Sloveniji kot tudi mednarodno po sveži hmeljski aromi. Cilj raziskave je bilo okarakterizirati štiri slovenske sorte hmelja - Savinjski golding, Aurora, Dana, 31/299 in križanca A6/58 na osnovi komponent eteričnega olja, ki dajejo hmelju različen vonj. Preliminarna študija je pokazala, da imajo vse vključene sorte hmelja soroden tip vonja.

Ključne besede: hmelj, eterično olje, karakterizacija, vonj

⁸ PhD, Slovenian Institute of Hop Research and Brewing / Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenija, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenija, e-mail: andreja.cerenak@ihps.si

⁹ PhD, the same address, e-mail: martin.pavlovic@ihps.si

¹⁰ B.Sc., the same address, e-mail: monika.oset-luskar@ihps.si

¹¹ PhD, the same address, e-mail: iztok.kosir@ihps.si

1 INTRODUCTION

Hops, cones of the hop plant (*Humulus lupulus* L.), are used in brewing beer to add bitterness and aroma. The quality of the final product – beer – depends on the hop variety used in the process. Those breweries that still use traditionally aromatic hops tend to buy hops of a known variety and origin. Traditional classification of hop cultivars divides them into three groups: (I) high alpha-acid, (II) intermediate alpha-acid and (III) aroma (noble) varieties.

In order to remain competitive, hop breeders must respond to the ever-changing needs of the brewing community by providing suitable new varieties. Slovenia traditionally produces its own European aroma hops, comprising approximately 3% of world hop production.

Dry hop contains 0.5-2.0% of essential oil. Hop essential oils consist of a large number of different components and although their composition is influenced by the environment, it is a good indicator of the genetic variability among different hop accessions (Kovačević and Kač, 2011). The chemical composition of hop oil is conventionally described as a mixture of hydrocarbon compounds, oxygenated compounds and sulphur-containing compounds (Sharpe and Laws, 1980).

In contrast to the resins, the essential oil of hops has received little attention. There is not much information available about the effect of hop oil on beer flavour, although a great deal is known about the chemical composition of the oil (Sharpe and Laws, 1980). Moreover most of the data are dispersed widely through the literature. Quite a lot of research work using essential oil analysis was done to identify the hop varieties (Kenny, 1990; Kralj et al., 1991; Kovačević and Kač, 2001; Kovačević and Kač, 2002; Shellie et al., 2009).

In this study, specific essential oil components from three new hop aroma genotypes, i.e. two new cultivars Dana and 31/299 (with proposed name Styrian gold) and a breeding line A6/58, were compared with traditional Slovene varieties Savinjski golding and Aurora. The comparison of compounds was done based on analysis suggested by Whittock and Koutoulis (2011) of Australian aroma varieties.

2 METHODS

All hop samples were picked at the time of their technological maturity (end of August / beginning of September) on the experimental farm of the Slovenian Institute of Hop Research and Brewing in Žalec, and from the fields of two hop

farmers in Prekopa and Turiška vas during the harvest season of 2010 and 2011, respectively.

The hop fields of all varieties were cultivated with good agronomic practises at each location. Altogether, six samples of each variety were included in the research.

The moisture and essential-oils content was determined using standard Analytica-EBC methods 7.2 and 7.10 (Analytica-EBC 2007). The composition of the essential oils was determined according to standard Analytica-EBC method 7.12 by gas chromatography (GC) on Agilent GC chromatograph series 6890, equipped with a flame ionization–detector (FID).

3 RESULTS AND CONCLUSION

The compounds that were qualified using GC-mass spectrometry (GC-MS) included esters (one thioester), ketones and alcohols (monoterpene and acyclic sesquiterpene alcohols) in the oxygenated group, and mono- and di-terpenes, cyclic monoterpenes, sesquiterpenes and bicyclic sesquiterpenes. The oxygenated compounds present in hop essential oil tend to provide fruity and floral aromas (Murray et al, 1987). Esters and ketones are identified with fruity odours, while the alcohols tend to be identified with floral odours. Terpenes (myrcene, humulene, farnesene, and caryophyllene) and their oxides (humulene epoxides I and II) are associated with citrus (limonene), herbal and spicy/woody odours. The relative composition of essential oil data for 19 compounds (87-91 % of the total essential oil) identified as having fruity, floral, citrus, herbal and spicy/woody aromas are presented in Table 1.

The amount of essential oil relative to alpha acids ($\mu\text{L/g}$ alpha-acid) is an important metric when determining the dosing of aroma hops. Dana has an alpha-acid content of 13.5 % on average and 3.15 mL of essential oils on average. However, essential oil levels relative to the alpha-acid in Dana are 233 $\mu\text{L/g}$ alpha-acid. Therefore, with careful dosing, it should be possible to use high alpha-acid flavour hops (such as Dana) without unduly affecting the bitterness profiles of the beer being produced.

Table 1: Summary of 19 essential oil compounds, connected with a distinct odour in four Slovenian grown varieties and one breeding line, expressed as an average of all the samples included. All data are in relative %.

Preglednica 1: Povzetek 19 component eteričnega olja, povezanih s specifičnim v onjem, pri 4 slovenskih sortah in enem križancu, izraženem v povprečju vseh vključenih vzorcev. Vsi podatki so v rel. %.

Genotype	Savinjski golding	Aurora	Dana	31/299	A6/58
Essential oil components					
Fruity					
isobutyl isobutyrate	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00
2-nonanone	0,17	0,38	0,22	0,24	0,20
methyl nonanoate	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2-undecanone	0,39	1,34	0,49	0,29	0,31
methyl decadienoate	0,61	0,48	0,27	0,79	0,35
Sum of fruity	1,18	2,20	0,98	1,32	0,86
Floral					
linalool	0,60	0,75	0,63	0,30	0,72
geraniol	0,09	0,19	0,15	0,32	0,07
Sum of floral	0,69	0,94	0,77	0,62	0,79
Citrus					
limonene	0,16	0,19	0,20	0,22	0,20
Herbal					
beta pinene	0,50	0,51	0,53	0,80	0,74
beta selinene	0,22	0,12	0,10	0,16	0,26
alpha selinene	0,65	1,11	0,58	0,51	0,58
gamma cadinene	1,30	0,90	1,03	1,13	0,86
delta cadinene	0,12	0,09	0,10	0,31	0,19
humulene epoxide I	0,53	0,24	0,13	1,04	0,20
humulene epoxide II	0,19	0,56	0,52	0,09	0,25
Sum of herbal	3,51	3,52	3,00	4,03	3,09
Spicy/Woody					
myrcene	41,61	51,36	56,76	44,88	52,05
caryophyllene	8,67	5,76	6,59	9,03	6,26
beta farnesene	5,23	5,98	6,47	5,30	15,62
humulene	26,40	17,78	16,54	21,69	12,21
Sum of spicy/woody	81,91	80,87	86,36	80,90	86,13
% oil accounted for	87,45	87,72	91,31	87,09	91,07

Linalool, considered a positive indicator of hop quality, is included as a compound with floral aroma, but it is not clear that levels of free linalool in the essential oil of hops have a direct relationship with levels of linalool in beer. There is evidence that free linalool in beer is degraded rapidly, and that glycosidically-bound linalool is responsible for most of the detectable linalool in beer (Kollmannsberger et al., 2006). Whether levels of free linalool in the essential oil of a particular hop are related to the levels of glycosidically-bound linalool in any variety is not understood. With regard to levels of free linalool in the varieties included in this study, the lowest levels were observed in the 31/299 and the highest in the Aurora (Table 1).

In measuring the levels of geraniol, which gives the hop its floral odour, 31/299 has reached the highest level.

Limonene was the only compound which was determined in the category of citrus odour, but even other compounds, such as linalool, geraniol and farnesene, may contribute in the perception of citrus odour or flavour. Relatively high levels of limonene were observed in all varieties, with the lowest found in Savinjski golding. Comparing the genetically close varieties Savinjski golding and 31/299 (a progeny of Savinjski golding), 31/299 can exceed relatively higher levels.

Comparing to the results from Australian researchers Whitock and Koutoulis (2011), Australian varieties have much higher components of herbal odours (e.g., alpha and beta selinene) than the Slovenian hops included in our research. In general, the results of our experiment show that all the varieties tested offer a small degree of the components giving herbal odour.

The highest level of compounds with fruity odours was found in the samples of Aurora, but without any characteristic difference. In general, the essential oils of all tested genotypes do not have a great deal of the compounds with fruity character. It is interesting that methyl nonanoate was not found in any of samples collected.

However, compounds providing a spicy/woody character make up the highest proportion of the essential oils in our varieties. It is difficult to see much of a pattern in the distribution between varieties of these compounds, due to the dominance over this fraction by myrcene (Table 1). Because of its volatility, myrcene is likely to be present only in beer which has been dry hopped. Relatively high levels of spicy/woody odour compounds were seen in Dana and A6/58, following by the other three varieties tested.

In conclusion, we would point out that the composition of the odour compounds for all the Slovenian varieties tested and disclosed in this article are very similar. They all have a very strong spicy/woody character.

As might be predicted, the Slovenian hop breeding program has developed varieties with a more or less similar odour which gives a very pleasant, hoppy aroma to the beer. In this research, we selected only 19 compounds from the broad spectrum of oil components which combine to give the complete odour and taste to the beer. In the future, in our breeding program, we will look for new, different proportions of essential oil compounds to give distinct aroma and taste to the beer.

Acknowledgement

Supported by the project *DMCSEE* (South East Europe program) and by the project *Hop industry lifelong learning program* (Leonardo da Vinci, Transfer of Innovation program).

4 REFERENCES

- Analytica-EBC. 2007. Section 7 – Hops, Methods 7.2, 7.7, 7.10, 7.12; Carl, Getränke-Fachverlag, Nürnberg.
- Kenny, S.T. 1990. Identification of U.S.-Grown Hop Cultivars by Hop Acid and Essential Oil Analyses. *American Society of Brewing Chemists Journal*, 48, pp. 3-8.
- Kollmannsberger, H., Biendl, M. and Nitz, S. 2006. Occurrence of glycosidically bound flavour compound in hops, hop products and beer. *Monatschrift für Brauwissenschaft*, 59, pp. 83–89.
- Kovačević, M. and Kač, M. 2001. Solid-phase microextraction of hop volatiles. Potential use for determination and verification of hop varieties. *Journal of Chromatography A*, 918, pp. 159–167.
- Kovačević, M., and Kač, M. 2002. Determination and verification of hop varieties by analysis of essential oils. *Food Chemistry*, 77, pp. 489–494.
- Kralj, D., Zupanec, J., Vasilj, D., Kralj, S., and Pšeničnik, J. 1991. Variability of essential oils of hops, *Humulus lupulus* L. *Journal of the Institute of Brewing*, 97, pp. 197–206.
- Murray, J.P., Westwood, K., and Daoud, I. 1987. Late hop flavour. 21st Congress of the European Brewing Convention, Madrid, Spain, pp. 321–328.
- Sharpe, F.R. and Laws, D.R.J. 1980. The essential oil of hops: A review. *Journal of the Institute of Brewing*, 87, pp. 96–107.
- Shellie, R.A., Poynter, S.D., Li, J., Gathercole, J.L., Koutoulis, A. 2009. Varietal characterisation of hop (*Humulus lupulus* L.) by GC-MS analysis of hop cone extracts. *Journal of Separation Science*, 32, pp. 3720–3725.
- Whitock, S., and Koutoulis, A. 2011. New hop (*Humulus lupulus* L.) aroma varieties from Australia. Proceedings of the Scientific Commission, International Hop Growers' Convention I.H.G.C. Lublin, Poland, pp. 10–13.

**PRELIMINARNE RAZISKAVE ŽIVLJENSKEGA KROGA
HMELJEVEGA RILČKARJA (*Neoplinthus tigratus porcatus*) V
NADZOROVANIH RAZMERAH**

Magda RAK CIZEJ¹², Anja Cilenšek¹³, Sebastjan RADIŠEK¹⁴

UDK/ UDC 633.791:632.76(045)

izvirni znanstveni članek / original scientific paper

prispelo / received: 25. 10. 2011

sprejeto / accepted: 26. 11. 2011

Izvleček

Hmeljev rilčkar (*Neoplinthus tigratus porcatus* Panzer) je v Sloveniji pomemben škodljivec hmelja. Njegovo zatiranje trenutno temelji predvsem na izvajanju fitosanitarnih higienskih ukrepov. Pri biotičnem zatiranju ličink hmeljevega rilčkarja (npr. uporaba entomopatogenih ogorčic) je izrednega pomena pravočasna uporaba pripravkov. Pri tem je ključnega pomena natančno poznavanje njegovega razvojnega kroga. Razvoj ličink hmeljevega rilčkarja do imaga smo spremljali tri leta v nadzorovanih razmerah (dnevna temperatura 20°C, nočna 15°C, dolžina dneva 11 ur in 13 ur teme). Ugotovili smo dolžino posameznih razvojnih faz, ki so v povprečju trajale od 19,22 do 13,09 dni in skupno dolžino trajanja razvoja hmeljevega rilčkarja od ličink do odraslega rilčkarja, ki je bila v povprečju 83,82 dni. Pri življenjskem krogu hmeljevega rilčkarja je še veliko neznank (prehranjevanje odraslih rilčkarjev, število generacij letno, idr.), katere bo v bodoče potrebno še raziskati.

Ključne besede: življenjski krog, hmelj, *Humulus lupulus* L., hmeljev rilčkar, *Neoplinthus tigratus porcatus*, rastna komora

¹² Dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, e-pošta: magda.rak-cizej@ihps.si

¹³ Prav tam, e-pošta: anja.cilensek@ihps.si

¹⁴ Dr., prav tam, e-pošta: sebastjan.radisek@ihps.si

A PRELIMINARY STUDY OF THE LIFE CYCLE OF THE HOP SNOOT WEEVIL (*Neoplinthus tigratus porcatus*) IN CONTROLLED CONDITIONS

Abstract

The hop snout weevil (*Neoplinthus tigratus porcatus* Panzer) is an important pest of hop in Slovenia. Currently, the suppression of this weevil is based on phytosanitary hygiene measures. In the case of biological suppression of hop snout weevil larvae (e.g., use of entomopathogenic nematodes), the time to apply the products is one of the most important factors. For this reason, it is necessary to know the life-cycle of the hop snout weevil. Over the period of three years, we monitored the development of hop snout weevil from larvae to imago under controlled conditions (daily temperature 20°C, night temperature 15°C, the length of day 11 hours and 13 hours of darkness). We determined the length of each developmental phase (which averaged from 19.22 to 13.09 days) and total development from larvae to adult weevil, which takes, on average, 83.82 days. There is still a lot unknown about the life-cycle of the hop snout weevil (e.g., adult feeding, number of generations per year), so further investigation will be necessary.

Key words: life cycle, hop, *Humulus lupulus* L., hop snout weevil, *Neoplinthus tigratus porcatus*, growing chamber

1 UVOD

Hmeljev rilčkar (*Neoplinthus tigratus porcatus* Panzer) je škodljivec hmelja (*Humulu lupulus* L.), ki je trenutno znan le v Sloveniji. V Savinjski dolini se je prvič pojavil leta 1893 (Janežič, 1951). Trenutno je hmelj njegova edina znana gostiteljska rastlina. Je eden najstarejših škodljivcev hmelja v Sloveniji, vendar v zadnjih 50. letih ni povzročal (pre)velike škode (Kač, 1957). Po letu 2000 je ponovno pričel pridobivati na pomenu, saj je zelo pogost škodljivec v hmeljiščih, predvsem v Savinjski dolini, ter lahko povzroči poškodbe podzemnih delov hmelja tudi do 60 %, mestoma celo do 100 % (Rak Cizej in Žolnir, 2002; Rak Cizej in Radišek, 2009; Rak Cizej in Radišek, 2011). Največ škode povzročajo ličinke, ki so prisotne v podzemnem steblu in v koreniki hmelja rijejo dolge hodnike, s tem povzročajo omejeno sprejemanje vode in hranilnih snovi (Dolar in sod., 2002). Napadena rastlina ima slabše možnosti za prilagajanje stresnim razmeram, ki so velikokrat prisotne v času klimatskih sprememb. Ličinke opazimo pri rezi hmelja, odrasle rilčkarje pa v maju in juniju ob navijanju hmelja. Odrasle rilčkarje je čez dan težko opaziti, ker so nočni škodljivci in se preko dneva zadržujejo pri tleh tik ob koreninskem vratu. Zanimivo je, da odraslih hroščev do sedaj nismo opazili, da

bi se prehranjevali z deli rastlin (z listi ali stebлом hmelja, kot na primer lucernin rilčkar, ki je tudi prisoten na hmelju) (Rak Cizej in Radišek, 2009). Zaradi prej omenjenih lastnosti škodljivca, v hmeljiščih težko opazimo odraslega rilčkarja, zato je njegovo zatiranje zelo težavno oziroma manj uspešno. Pri zatiranju ličink se soočamo z drugim težavami, saj se ličinke nahajajo v notranjosti rastline (običajno v podzemnem delu stebela in korenini), do katerih insekticidna raztopina težko dospe (Vostrel, 1997; Rak Cizej in Radišek, 2010). Druga težava je v tem, da imamo na razpolago omejeno število registriranih insekticidov in nobenega izmed njih, ki bi bil primeren za talno uporabo (Rak Cizej in Radišek, 2010). Tudi ob uporabi biotičnih načinov zatiranja ličink hmeljevega rilčkarja (npr. uporaba entomopatogenih nematod) nismo bili uspešni (Rak Cizej in Radišek, 2010). Pri monitoringu hmeljevega rilčkarja smo našli ličinke različnih velikosti – stadijev. Tako ostaja vprašanje števila generacij letno in tudi, ali ima hmeljev rilčkar 1- do 2-letni razvojni cikel. V ta namen smo pričeli s preučevanjem razvojnega kroga hmeljevega rilčkarja v nadzorovanih razmerah.

2 MATERIAL IN METODE

Razvojni krog hmeljevega rilčkarja smo v nadzorovanih razmerah spremljali tri leta in sicer od leta 2009 do 2011. V poskus smo vključili ličinke hmeljevega rilčkarja, katere smo nabrali v poškodovanih podzemnih delih trte hmelja spomladi ob rezi hmelja. Ličinke smo nabrali na sorti hmelja Aurora v vseh treh letih v enakem časovnem obdobju (3. aprila 2009, 30. marca 2010, 2. aprila 2011) v Savinjski dolini. Vsako poškodovano trto, v kateri se je nahajala ličinka hmeljevega rilčkarja, smo prerezali, izmerili ličinko, nato smo jo dali nazaj v trto, katero smo ovili na obeh krajih z gumico in jo ustrezno označili. Dolžina trt za spremljanje bionomije hmeljevega rilčkarja je bila 15 cm, kar je omogočalo normalen razvoj ličink do konca opazovanj. To smo ugotovili na osnovi preliminarnih raziskav. Trte, skupaj z ličinkami, smo dali v plastične posode velikosti 18 cm x 18 cm x 9,5 cm. Vse posode so imele odprtino za zrak. V vsako posodo smo dali 10 trt. V vsakem letu smo imeli 10 ponovitev (posod). Trte smo prekrili z zemljo v višini cca. 1 cm, da smo preprečili izsušitev in s tem posledično uničenje ličink. V vseh letih smo spremljali razvoj ličinke hmeljevega rilčkarja pod enakimi nadzorovanimi razmerami in sicer je bila dnevna temperatura v rastni komori 20°C, nočna 15°C, dolžina dneva 11 ur in dolžina noči 13 ur. Omenjene parametre smo izbrali, ker smo se želeli čim bolj približati razmeram v naravi in sicer v obdobju, ko je razvoj ličink hmeljevega rilčkarja verjetno najbolj intenziven (maj, junij). Razvoj ličink hmeljevega rilčkarja smo redno spremljali na 7 dni in pri vsakem pregledu izmerili dolžino ličink. Razvoj ličink smo spremljali do razvoja imagov (odraslih rilčkarjev). Določili smo razvojne faze rilčkarja in sicer od 1. do 6. faze (preglednica 1).

Preglednica 1: Faze razvoja in dolžina ličink hmeljevega rilčkarja (*Neoplinthus tigratus porcatus*)

Table 1: Development phases and length of larvae of hop snout weevil (*Neoplinthus tigratus porcatus*)

Faze razvoja	Dolžina ličinke (cm)
1	0,1-0,4
2	0,5-0,8
3	0,9-1,2
4	1,3-1,7
5	buba
6	imago (rilčkar)

Pridobljene rezultate smo statistično ovrednotili z uporabo računalniškega programa Statgraphics Centurion XVI z uporabo analize variance in Duncunovim testom mnogoterih primerjav.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

Spremljanje razvoja ličink hmeljevega rilčkarja je izredno intenzivno, saj zahteva natančnost in spretnost še posebej pri najmanjših ličinkah velikost 0,1 cm, da jih vzgojimo do odraslega rilčkarja. Nekaj ličink nam je med spremljanjem bionomije tudi propadlo. Spomladi ob nabiranju ličink smo jih našli v različnih fazah razvoja (od najmanjše 0,1 cm do največje 1,7 cm). Ker v literaturi ni podatkov glede razvojnih faz hmeljevega rilčkarja kot tudi ne za sorodne vrste rilčkarjev, smo zaradi lažjega dela sami določili faze razvoja rilčkarja.

Ob nabiranju ličink je bil delež posameznih razvojnih faz (od 1 do 4) različen v posameznih letih. V splošnem lahko rečemo, da je bilo spomladi ob nabiranju ličink največji delež ličink v fazi razvoja 3 (v povp. 41,74 %), sledile so ličinke v fazi razvoja 2, katerih je bilo v povprečju treh let 33,94 %. Najmanjši delež ličink v spomladanskem času je pripadal fazama 1 in 4 (preglednica 2). Tako lahko povzamemo, da je bilo v povprečju v treh letih delež najdenih ličink v spomladanskem času (začetek aprila) v fazah razvoja 2 in 3 od 30 do 50 %. Od navedenega odstopa delež ličink posameznih razvojnih faz v letu 2011, ko smo ob nabiranju našli velik delež ličink (35,0 %) v fazi 1 in nobene ličinke v najvišji razvojni fazi 4 (preglednica 2). Trenutno nimamo jasno znanega razloga za omenjeno dejstvo, je pa eden od pomembnih faktorjev vreme, ki vpliva na dinamiko razvoja. Leta 2011 smo ob nabiranju ličink našli tudi eno bubo. Navedeno nakazuje, da lahko ima hmeljev rilčkar na hmelju v naših razmerah 1 do

2 generaciji letno ali pa traja njegov razvoj 1 do 2 leti, kar je odvisno od časa odlaganja jajčec.

Preglednica 2: Delež ličink hmeljevega rilčkarja (*Neoplinthus tigratus porcatus*) glede na razvojno fazo (pomlad v letih 2009-2011)

Table 2: Proportion of larvae hop snout weevil (*Neoplinthus tigratus porcatus*) depending on the developmental stage (spring in 2009-2011)

Faza razvoja/dolžina ličink	Delež ličink hmeljevega rilčkarja (%) v posamezni fazi razvoja			
	2009	2010	2011	Povpr.
1 (0,1-0,4 cm)	8,45	1,89	35,00	16,51
2 (0,5-0,8 cm)	35,21	20,75	38,00	33,94
3 (0,9-1,2 cm)	54,93	47,17	27,00	41,74
4 (1,3-1,7 cm)	1,41	30,19	0,00	7,80

Preglednica 3: Dolžina razvojnih faz hmeljevega rilčkarja (*Neoplinthus tigratus porcatus*) v rastni komori od 2009 do 2011

Table 3: The length of development phases of hop snout weevil (*Neoplinthus tigratus porcatus*) in years 2009 till 2011

Faze razvoja/opis	Povprečna dolžina razvoja (dni)		
	2009	2010	2011
1 (0,1-0,4 cm)	19,20 ^a	19,00 ^a	19,24 ^a
2 (0,5-0,8 cm)	18,17 ^b	14,91 ^a	18,17 ^b
3 (0,9-1,2 cm)	17,78 ^a	16,45 ^a	17,68 ^a
4 (1,3-1,7 cm)	16,64 ^a	16,20 ^a	16,08 ^a
5 (Buba)	14,00 ^a	10,50 ^a	12,83 ^a
Skupaj razvoj od faze 1-5	85,60 ^b	77,06 ^a	84,00 ^b

^{a, b} skupine z enako črko v indeksu med stolpci (povp. dolžina razvoja) med fazami razvoja se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (Duncan-ov test mnogoterih primerjav, $\alpha = 5\%$)

^{a, b} identical letter indicate no significant difference between column (avg. length of development) means ($P > 0.05$) on Duncan test

Glede na faze razvoja smo izračunali, koliko dni je bila ličinka v določeni fazi in koliko dni je trajal razvoj od ličinke velikosti 0,1 cm do odraslega rilčkarja. Pridobljene rezultate razvoja ličink in bub hmeljevega rilčkarja v rastni komori smo primerjali med leti. Razvoj ličink hmeljevega rilčkarja v vseh treh letih (2009 do 2011) je bil dokaj izenačen. Statistično značilna razlika je bila v 2. fazi razvoja ličink in sicer je v letu 2010 v povprečju razvoj trajal 14,91 dni in se je statistično

značilno razlikoval od leta 2009 in 2011. V teh dveh letih je bil razvoj dolg 18,17 dni (preglednica 3). Pri ostalih razvojnih fazah nismo opazili statistično značilnih razlik v dolžini razvoja.

Preglednica 4: Minimalna, maksimalna in povprečna dolžina posameznih faz razvoja hmeljevega rilčkarja (*Neoplinthus tigratus porcatus*) v rastni komori v letih 2009, 2010 in 2011

Table 4: Minimum, maximum and average length of individual phases of hop snout weevil (*Neoplinthus tigratus porcatus*) in growing chamber in years 2009, 2010 and 2011

Faze razvoja	Dolžina razvoja ličink/bube		
	Min. (dni)	Maks. (dni)	Povprečje (dni)
1 (0,1-0,4 cm)	14	24	19,22
2 (0,5-0,8 cm)	7	42	17,83
3 (0,9-1,2 cm)	5	31	17,44
4 (1,3-1,7 cm)	4	42	16,24
5 (Buba)	7	21	13,09
Skupaj razvoj od faze 1-5	57	118	83,82

V povprečju je bil razvoj ličink od faze 1 do 4 med 16,24 do 19,22 dni (preglednica 4). Prva faza razvoja je bila najdaljša in sicer v povprečju 19,22 dni, vsaka naslednja je bila krajša. Tako je 4. faza razvoja ličink vseh treh let trajala v povprečju 16,24 dni. Najkrajša je bila faza bube in sicer v povprečju 13,09 dni (preglednica 4). Leta 2009 je bila celotna dolžina razvoja od faze 1 do 5 (razvoj odraslega rilčkarja) 85,6 dni, leta 2010 je bil celoten razvoj za 8,5 dni krajši. Leto 2011 je primerljivo z razvojem ličink nabranih v letu 2009. Tu je vprašanje vpliva klimatskih razmer na ličinke pred začetkom gojenja v komori, kar bi bilo potrebno v bodoče natančno raziskati. Pri nadaljnjih raziskavah bi bilo potrebno ugotoviti čas pojavljanja odraslih rilčkarjev in čas odlaganja jajčec, za kar bi potrebovali posebne vabe in atraktante. Kot opažamo se namreč odrasli hrošči hmeljevega rilčkarja ne prehranjujejo z listi hmelja ali s stebli (Rak Cizej in Radišek, 2009), na podlagi česar bi bilo lažje zaznati in opaziti rilčkarja. Velike so razlike med najkrajšim in najdaljšim časom, potrebnim za razvoj posamezne faze (preglednica 4), kar pa je utemeljeno, saj ima v naravi vsaka ličinka različen genotip. Povprečna dolžina razvoja hmeljevega rilčkarja v nadzorovanih razmerah (rastni komori) pri dnevni temp. 20°C, nočni 15°C, dolžini dneva 11 ur, v letih 2009, 2010 in 2011 je bila 83,82 dni (preglednica 4).

4 ZAKLJUČKI

S pridobljenimi podatki preliminarnih raziskav življenjskega kroga hmeljevega rilčkarja, ki smo jih pridobili na osnovi spremljanja rasti ličink in bub v nadzorovanih razmerah (rastni komori) v treh letih, lahko zaključimo:

- Spomladi, ob rezi hmelja, smo hkrati našli ličinke vseh velikosti (faz razvoja), od 1 (min. dolžina 0,1 cm) do 4 (maks. dolžina 1,7 cm).
- Največ ličink vključenih v raziskavo je bilo v fazi 2, ko so bile ličinke velikosti med 0,5-0,8 cm (101 ličinka) in fazi 3, ko so ličinke velike od 0,9 do 1,2 cm (124 ličink).
- Ni bilo statistično značilnih razlik v dolžini trajanja posamezne razvojne faze hmeljevega rilčkarja, le pri fazi 2, ko je bil v letu 2010 statistično značilno krajši razvoj kot v letih 2009 in 2011.
- Najdaljši razvoj je imela faza 1 (dolžina ličink od 0,1-0,4 cm) in sicer 19,22 dni; vsaka nadaljnja faza je bila krajša.
- Najkrajši razvoj ličink je imela faza 4 (dolžina ličink 1,3-1,7 cm) in sicer v povprečju 16,24 dni.
- Najkrajši razvoj hmeljevega rilčkarja je imela buba (faza 5) in sicer v povprečju 13,09 dni.
- V povprečju je razvoj hmeljevega rilčkarja, od ličink do pojava odraslega rilčkarja, trajal 83,82 dni.
- Trenutno ni jasno, ali ima hmeljev rilčkar 1 do 2 generaciji letno ali ima 1- do 2-leten razvojni cikel.
- Na osnovi pridobljenih podatkov razvoja hmeljevega rilčkarja v nadzorovanih razmerah je v bodoče potrebno preučiti celoten življenjski krog (od odlaganja jajčec do pojava odraslih rilčkarjev) tudi v naravi.

5 VIRI

- Dolinar M., Ferant N., Žolnir M., Simončič A., Knapič V. Priročnik za hmeljarje. Hmeljev hrošč. *Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec*. 2002; str. 73.
- Janežič F. Varstvo rastlin pred boleznimi in škodljivci. *Državna založba Slovenije*. 1951; s. 350-351.
- Kač M. Bolezni in škodljivci na hmelju. *Kmetijska proizvodjalna in poslovna zveza Žalec*. 1957; s. 153-155.
- Rak Cizej M., Radišek S. Hop snout weevil (*Neoplinthus tigratus porcatus* Panzer) is the important insect pest of hop (*Humulus lupulus* L.) in Slovenia. *Proceedings of the Scientific Commission*. 2011; s. 92-95.
- Rak Cizej M., Radišek S. Prisotnost rilčkarjev v slovenskih hmeljiščih. *Hmeljarski Bilten*. 2009; s. 75-82.

- Rak Cizej M., Radišek S. Rezultati poskusov zatiranja rilčkarjev na hmelju. *Zbornik 47. Seminarja o hmeljarstvu z mednarodno udeležbo*. 2010; s. 72-81.
- Rak Cizej, M., Žolnir, M., Hmeljev hrošč (*Neoplintus porcatus* (Panz), vse pogostejši škodljivec slovenskih hmeljišč. V: FRIŠKOVEC, I. (ur.). *40. seminar o hmeljarstvu, Portorož, 14. in 15. februar 2002, Slovenija : izvlečki prispevkov*. Žalec: Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo. 2002; s. 10-11.
- Vostrel, J. Hop protection against alfalfa snout weevil (*Otiorhynchus ligustici* L.) in Czech hop-gardens, *Rostlinna výroba*. 1997; 43(7), s. 333-335.

TAKSONOMIJA IN VARIABILNOST FITOPATOGENIH VRST GLIV IZ RODU *VERTICILLIUM*

Sebastjan RADIŠEK¹⁵, Branka Javornik¹⁶

UDC / UDK 561.28:575.2(045)

pregledni znanstveni članek / review scientific article

prispelo / received: 11. 10. 2011

sprejeto / accepted: 01. 12. 2011

Izvleček

Rod *Verticillium* zaradi svoje heterogenosti in ne odkritih teleomorfih (spolnih) oblik še vedno predstavlja enega od izzivov mikološke taksonomije. V fitopatologiji ta rod povezujemo s fitopatogenimi vrstami talnih gliv, ki povzročajo vaskularna obolenja in uvelosti mnogih kmetijskih rastlin. Proučevanja variabilnosti predstavljajo pomemben segment pri razumevanju izvora, širjenja in mehanizmov nastanka patogenosti ter prilagajanja različnim okoljem. Prispevek tako predstavlja retrospektivo razvoja taksonomske klasifikacije in proučevanja fiziološke specializacije fitopatogenih gliv iz rodu *Verticillium*, ki se vsakoletno nadgrajuje in revidira z razvojem novih znanstveno raziskovalnih pristopov.

Ključne besede: glive, taksonomija, *Verticillium* spp.

TAXONOMY AND VARIABILITY OF PHYTOPATHOGENIC *VERTICILLIUM* SPECIES

Abstract

Because of its heterogeneity and its lack of teleomorph forms, genus *Verticillium* still presents one of the important challenges in fungal taxonomy. In phytopathology, the genus is described as a group of plant pathogenic soil fungi, which are causing vascular diseases and wilting in many cultural plants. Variability studies present an important segment in understanding the origin and spreading of the fungus, as well as the mechanisms that contribute to the development of

¹⁵ Dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec,
e-pošta: sebastjan.radisek@ihps.si

¹⁶ Prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana,
e-pošta: branka.javornik@bf.uni-lj.si

pathogenicity and adaptation to different substrates. The manuscript presents a historical retrospective of *Verticillium* taxonomy and studies of physiological specialisation, which have been upgraded annually to reflect the development of new scientific and research approaches.

Key words: fungi, taxonomy, *Verticillium* spp.

1 UVOD

Rod *Verticillium* povezujemo z obsežno in heterogeno skupino askomicetnih gliv, ki lahko parazitirajo ogorčice, žuželke, rastline in glive. V mednarodni mikološki bazi Index Fungorum tako najdemo več kot 50 različnih vrst in skupno 260 zadetkov, ki opisujejo različne vrste, podvrste, različice in sinonime rodu *Verticillium*. Med vrstami pomembno vlogo zasedajo fitopatogene glive, ki so specializirane parazitiranju prevodnega tkiva rastlin in povzročajo uvelosti ter odmiranje velikega števila rastlinskih vrst predvsem iz skupine dvokaličnic. Do sedaj so okužbe zaznali na več kot 400 rastlinskih vrstah iz 80 rodov, število pa vsakoletno narašča, saj so samo v zadnjem desetletju potrdili več ko 60 novih gostiteljskih rastlin (Peeg in Brady, 2002). Letne ocene gospodarske škode na kmetijskih površinah in v proizvodnji okrasnih rastlin globalno presegajo več milijard dolarjev. Izgube pridelka se v povprečju gibljejo med 10-15 %, v primeru nekaterih rastlin kot so krompir, solata, paprika pa zlahka presegajo 50 %. Veliko škode nastaja pri pridelavi trajnic, kot so oljke, hmelj, okrasno drevje, jagodičevje in nekatere sadne rastline, kjer okužbe vodijo v propadanje nasadov (Klosterman, 2009). Ker gre za glive talnega habitata s sposobnostjo tvorbe trajnih organov (mikrosklerociji in melaniziran trajni micelij), ki več let preživijo v tleh, predstavljajo na okuženih površinah kroničen in ponavljajoč gospodarski problem.

Proučevanja variabilnosti predstavljajo pomemben segment pri razumevanju izvora, širjenja in mehanizmov nastanka patogenosti ter prilagajanja različnim substratom. Prispevek predstavlja retrospektivo razvoja taksonomske klasifikacije in proučevanja fiziološke specializacije fitopatogenih gliv iz rodu *Verticillium*, ki se vsakoletno nadgrajuje z razvojem novih znanstveno raziskovalnih pristopov.

2 TAKSONOMIJA IN NOMENKLATURA

Rod *Verticillium* je prvi opisal leta 1816 nemški mikolog Nees von Esenbeck, ki je zaradi značilnih vretenastih konidioforov ime rodu izpeljal iz latinske besede *verticillius* ali vretence. Kot tipične značilnosti rodu je določil enocelične hialine konidije in vretenaste konidifore z mezotono in akrotono lego fialid. Izolat glive, ki

ga je proučeval, je poimenoval *V. tenerum*. V prvi polovici 19. stoletja se je za morfološko podobne glive prvič pojavilo tudi ime *Acrostalagmus* kot povsem ločen rod (Corda, 1838), kar pa je bilo kasneje s konsenzom določeno, da gre za eno samo skupino gliv pod imenom *Verticillium* (Hoffman, 1854). Kljub temu v literaturi še vedno srečamo ime *Acrostalagmus*, ki predstavlja sinonim rodu *Verticillium*. Nadaljnja taksonomska proučevanja so pokazala, da rod *Verticillium* predstavlja izrazito polifiletično skupino nespolnih gliv, pri katerem so nekatere vrste povezane s skupino zaprtotrošnic Ascomycota, predvsem z družinami Clavicipitae, Hypocreaceae, Nectriaceae in Phyllachoraceae (Gams in Van Zaayen 1982). Ker pri večini vrst ni bilo odkritih teleomorfni oz. spolnih oblik je bil rod na osnovi morfoloških lastnosti taksonomsko uvrščen v ne-filogenetsko urejeno skupino Deuteromycota, nižje v razred Hyphomycetes, red Hyphomycetales in družino Moniliaceae. Izrazita heterogenost vrst rodu *Verticillium* je prispevala še nadaljnji morfološki razdelitvi na 4 sekcije (Gams, 1988; Gams in Van Zaayen, 1982). Za sekcijo *Prostrata* so značilni manj razviti konidiofori in vključuje predvsem saprofitske, nematopatogene in entomopatogene vrste kot so *V. chlamydosporium*, *V. balanoides*, *V. fungicola* in *V. lecanii*. Sekcija *Albo-erecta* je dobila ime po močno razvitih konidoforih, katere tipični predstavnik je vrsta *V. rexianum*. Za sekcijo *Verticillium* je značilna oranžno rjava obarvanost micelija in vključuje samo vrsto *V. tenerum*, ki je bila tudi prva opisana leta 1816. Naslednja sekcija *Nigrescentia* za katero so značilne vrste s temnimi trajnimi organi pa vključuje šest fitopatogenih vrst *V. albo-atrum*, *V. dahliae*, *V. tricorpus*, *V. nigrescens*, *V. nubilum* in *V. theobromae* od katerih prvi dve povzročata visoko gospodarsko škodo v kmetijstvu, medtem ko ostale vrste spadajo med manj pomembne patogene, ki le redko povzročijo bolezensko stanje. V tej skupini je zgodovinsko zanimiva taksonomska razprava, ki je obravnavala *V. albo-atrum* in *V. dahliae* in trajala skoraj pol stoletja. Nemška znanstvenika Reinke in Berthold sta leta 1879 prvič opisala glivo *V. albo-atrum*, ki sta jo izolirala iz uvelih rastlin krompirja. Razprava pa se prične z objavo opisa vrste izolirane iz obolelih dalij, ki jo je Klebahn (1913) poimenoval *V. dahliae* in ki se po tvorbi mikrosklerocijev razlikuje od *V. albo-atrum*. Zaradi mnogih skupnih gostiteljskih rastlin, izgube sposobnosti tvorbe trajnih organov in pigmenta v procesu umetnega vzdrževanja so mnogi raziskovalci priznavali samo vrsto *V. albo-atrum*. Tako je nastalo več različnih taksonomskih opisov gliv med katerimi sta dobro znana *V. albo-atrum* var. *dahliae*, *V. albo-atrum* var. *menthae*, za katere je sedaj jasno da spadajo v vrsto *V. dahliae*. Šele obsežnejša raziskava izolatov iz različnih gostiteljskih rastlin, ki jo je leta 1949 objavil Isaac, je na osnovi morfoloških, fizioloških in patoloških značilnosti predstavila jasne dokaze o ločitvi vrst *V. albo-atrum* in *V. dahliae*.

Popolno revizijo taksonomije nespolnih gliv je pred desetletjem omogočil razvoj molekularnih tehnik, kjer je bilo veliko raziskav usmerjenih predvsem v analizo

specifičnih lokusov ali posameznih delov genoma, kot so analize ribosomske DNA (rDNA) in ponovljivih DNA zaporedij. Tako novejša klasifikacija, ki na osnovi molekularnih analiz omogoča združevanje gliv s spolnim ciklom z nespolnimi glivami v enoten sistem, uvršča rod *Verticillium* v družino Plectosphaerellaceae, podrazred Hypocreomycetidae, razred Sordariomycetes, poddeblo Pezizomycotina in deblo Ascomycota (IndexFungorum, 2011).

Prvotna oz. *senzo lato* skupina gliv rodu *Verticillium* pa se je nadalje razdelila na še 4 nove rodove *Pochonia*, *Lecanicillum*, *Haptocillium* in *Simplicillum* (Zare, 2003). Tako prvotno ime *Verticillium* sedaj določajo le še fitopatogene vrste, katerih variabilnost je predstavljena v nadaljevanju prispevka na primeru najbolj proučenih vrst *V. albo-atrum* in *V. dahliae*.

3 FIZIOLOŠKA SPECIALIZACIJA

Pri glivah *V. albo-atrum* in *V. dahliae* ne poznamo fiziološko specializiranih skupin, ki bi bile strogo vezane na samo določene gostiteljske rastline, kot lahko to srečamo npr. pri glivah iz rodu *Fusarium*, kjer imamo več gostiteljsko specializiranih form (*formae specialis*) in naprej fizioloških ras. Izolati gliv *V. albo-atrum* in *V. dahliae* se razlikujejo v patogenosti na različnih gostiteljskih rastlinah, vendar so na splošno bolezenska znamenja na primarnih gostiteljih bolj izrazita (Bhat in Subbarao, 1999). Kljub temu pa je znanih nekaj primerov nastanka fiziološke specializacije, npr. pri glivi *V. albo-atrum* izolati iz lucerne ali hmelja in pri *V. dahliae* izolati iz bombaža, mete in paradižnika (Sewell in Wilson, 1984; Schnathorst, 1971). Vzrok za tako nizko stopnjo fiziološke specializacije ostaja še nepojasnen predvsem zaradi kompleksnosti narave interakcije rastlina-parazit, saj je do sedaj odkrit le en specifičen gen za odpornost (*Ve* gen pri paradižniku), medtem ko večina rastlin izraža toleranco (Rowe, 1995).

Na hmelju so v Angliji identificirali štiri različno virulentne patotipe glive *V. albo-atrum*, ki v odvisnosti od kultivarja povzročajo blago ali letalno obliko hmeljeve uvelosti. Po prvem odkritju blage oblike bolezni leta 1924 je na začetku leta 1933 sledil izbruh letalne oblike, ki se je hitro razširil in povzročil visoko gospodarsko škodo. Isaac in Keyworth (1948) sta s patogenimi testi dokazala, da je vzrok različnih oblik obolenja v pojavu dveh patotipov od katerih M (mild) povzroča blago obliko, letalna oblika pa je posledica okužb z virulentnejšem patotipom PV1 (progressive virulent). Sledilo je obsežno sajenje tolerantnih kultivarjev, na katerih so se v začetku sedemdesetih let prejšnjega stoletja pričeli novi izbruhi hmeljeve uvelosti. Sewell in Wilson (1984) sta s patogenimi testi na različnih kultivarjih hmelja ponovno ovrednotila populacijo hmeljnih izolatov *V. albo-atrum* in pri tem identificirala še dva nova patotipa PV2 in PV3, od katerih slednji lahko povzročijo

obolenje tudi na visoko tolerantnem kultivarju Wye Target. Letalna oblika hmeljeve uvelosti in pojav virulentnih patotipov glive *V. albo-atrum* so do nedavnega bili opisani samo v Angliji, leta 1997 pa je prišlo do izbruha letalne oblike tudi v Sloveniji. Na osnovi bolezenskih znamenj, odkritja primarnega žarišča in rezultatov patogenih testov ter molekularnih analiz je bil kot povzročitelj letalne oblike potrjen nov virulentnejši patotip glive *V. albo-atrum* (Radišek in sod., 2003). O pojavu zelo virulentnih izolatov *V. albo-atrum* od leta 2005 poročajo tudi iz Nemčije, kjer je letalna oblika bolezni močno prizadela hmeljišča na območju regije Hallertau na Bavarskem (Seefelder in sod., 2009).

Visoko stopnjo fiziološke specializacije izražajo izolati *V. albo-atrum*, ki so bili prvič opisani leta 1918 na Švedskem in povzročajo uvelost lucerne (Hedlund, 1923). Bolezen se je s semenom hitro razširila najprej v Nemčijo, leta 1953 o njej poročajo v Veliki Britaniji, 1962 v nekdanjih republikah Sovjetske zveze, 1964 v Kanadi, 1976 v ZDA in tako je v 58 letih okužila večino svetovnih pridelovalnih območij lucerne (Pegg, 1984). Raziskave s patogenimi testi so pokazale, da so izolati iz lucerne patogeni samo lucerni in v večini primerov ne povzročajo bolezenskih znamenj na ostalih gostiteljskih rastlinah glive *V. albo-atrum* in obratno, izolati iz ostalih gostiteljskih rastlin ne povzročajo uvelosti lucerne (Heale, 1985). Prav tako je pomembno dejstvo, da kljub veliki razširjenosti do sedaj med izolati iz lucerne še ni bilo odkrite variabilnosti, kar nakazuje, da gre za genetsko homogeno klonsko populacijo s skupnim izvorom (Correll in sod., 1988; Busch in Smith, 1982).

V primerjavi z glivo *V. albo-atrum* najdemo pri *V. dahliae* več fiziološko specializiranih skupin izolatov od katerih je zelo razširjena skupina, ki parazitira bombaž. Schnathors (1971) je v populaciji izolatov iz ZDA identificiral dva različno virulentna patotipa P1 in P2, ki podobno kot patotipi *V. albo-atrum* na hmelju povzročata blago in letalno obliko obolenja. Virulentnejši P1 se je s semenom hitro razširil in je sedaj prisoten v Španiji, Mehiki, Kitajski in Peruju (Pegg in Brady, 2002). Kljub visoki specializiranosti izolatov na bombaž je znana navzkrižna patogenost na oljko, kjer omenjena patotipa inducirata podobna bolezenska znamenja (Schnathors in Sibbett, 1971). Tako je v Španiji, kjer se prekrivata območja gojenja bombaža in oljk, virulentnejši patotip povzročil visoko ekonomsko škodo na obeh gostiteljskih (Perez-Artes in sod., 2000).

Vpliv monokultur na fiziološko specializacijo je opazen tudi pri izolatih *V. dahliae* iz mete, ki se je v ZDA na začetku prejšnjega stoletja veliko let pridelovala na istih površinah. Izolati iz mete povzročajo bolezenska znamenja samo rastlinam iz rodu *Mentha* in so v 40 letih od prvega izbruha leta 1926 skoraj popolnoma uničili proizvodnjo poprove in zelene mete v nekaterih ameriških državah kot je Michigan (Pegg in Brady, 2002). Nelson (1950) navaja, da izolati iz ostalih gostiteljskih

rastlin niso patogeni rastlinam iz rodu *Mentha*, kar je po specializaciji primerljivo z izolati *V. albo-atrum* iz lucerne.

Pomembno fiziološko specializirano skupino predstavljajo izolati *V. dahliae*, ki parazitirajo večino rastlin iz družine križnic (Brassicaceae). Stark (1961) je prvi identificiral to skupino v obolelem hrenu in jo zaradi značilno večjih konidijev poimenoval *V. dahliae* var. *longisporium*. Raziskave so pokazale, da je vsebnost DNA v konidijih teh izolatov 1.75 krat večja kot pri ostalih izolatih *V. dahliae*, zato te izolate opisujemo kot amfihaploide (Collins in sod., 2003). Ta skupina izolatov je sedaj v Evropi zelo razširjena na oljni repici, v ZDA na cvetači in hrenu ter na Japonskem na različnih križnicah. Na osnovi morfoloških lastnosti, patogenih testov in molekularnih analiz so Karapapa in sod. (1997) predlagali to skupino kot novo vrsto *V. longisporium*, vendar odkritje nekaterih drugih različic kaže, da ti izolati verjetno predstavljajo medvrstne hibride in ne povsem nove vrste (Collins in sod., 2003). Dokončna potrditev še vedno ostaja predmet nadaljnjih raziskav. Kljub prilagoditvi te skupine pa je znano, da križnice lahko parazitirajo tudi drugi haploidni izolati te vrste.

Edini znani specifičen odnos med gostiteljsko rastlino in parazitom pri fitopatogenih vrstah *Verticillium* spp. velja med izolati rase 1 *V. dahliae* in *Ve* genom, ki je bil odkrit v divji vrsti paradižnika *Lycopersicon pimpinellifolium* iz Peruja in sedaj predstavlja vir odpornosti v večini komercialnih kultivarjev paradižnika (Pegg in Brady, 2002). Izolati rase 1 so fiziološko specializirani na družino razhudnikov in lahko poleg paradižnika prizadenejo tudi papriko, krompir in jajčevce. Deset let po pridelovanju odpornih kultivarjev se je pojavila rasa 2, ki presega odpornost *Ve* gena in se sedaj pojavlja na večini večjih pridelovalnih območij Francije, Italije, Grčije in ZDA. Dokazano je, da so izolati uvrščeni v raso 2 genetsko različni, kar nakazuje, da imajo več izvorov nastanka (Dobinson in sod., 1998).

Zadnji dve različno virulentni rasi glive *V. dahliae* sta opisani na solati v Kaliforniji, kjer od leta 1995 prihaja zaradi pojava rase 2 do množične izgube pridelka in velike gospodarske škode. Genetsko variabilnost obeh ras (1 in 2) so potrdili na osnovi primerjav ITS sekvenc ribosomalnih genov in patogenih testov na različnih sortah solat (Qin in sod., 2006). Podobno kot pri paradižniku so v solati potrdili vir odpornosti na raso 1, medtem ko vir odpornosti na raso 2 še ni znan in se intenzivno išče v genskih virih.

4 MOLEKULARNA VARIABILNOST

Angleška raziskovalca Carder in Barbara (1991) sta med prvimi uporabila molekularne tehnike pri določanju genetske variabilnosti med različnimi izolati vrst *V. albo-atrum*, *V. dahliae*, *V. tricorpus*, *V. nubilum*, *V. nigrescens* in *V. lecanii*. Glavno odkritje te raziskave predstavljajo rezultati RFLP analize z genomskimi sondami, s katerimi sta pri vrsti *V. albo-atrum* ugotovila razlike med izolati iz lucerne (skupina L) in izolati iz ostalih gostiteljskih rastlin (skupina NL), kar je potrjevalo predhodne analize o fiziološki specializaciji izolatov iz lucerne (Heale, 1985). Genomske sonde so prav tako jasno določile razlike med vsemi proučevanimi vrstami. Barbara in njegova skupina so nadaljevali raziskavo z RFLP metodo v smeri določanja genetskih razlik med izolati glive *V. dahliae*. Pri tem so v analizo vključili širok spekter izolatov, ki je vključeval tudi fiziološko specializirane izolate iz mete in amfihaploidne izolate *V. dahliae* var. *longisporium*, ki večinoma parazitirajo križnice. Rezultati analize so potrdili specifičnost izolatov iz mete (skupina M) in amfihaploidni izolatov (skupina D). Ostali izolati *V. dahliae* so se razvrstili v dve osnovni skupini A in B ter v vmesno skupino I (intermediate), ki pa se za razliko od skupin M niso D ujemale s patogenostjo izolatov, njihovim geografskim izvorom in ostalimi lastnostmi (Okoli in sod., 1993; 1994).

Pri določanju genetske variabilnosti je bilo veliko analiz usmerjenih k proučevanju nekodogenih variabilnih regij med rDNA geni. Tako so Nazar in sod. (1991) z določitvijo nukleotidnega zaporedja ITS regij med izolatom *V. albo-atrum* iz lucerne in izolatom *V. dahliae* iz sončnic odkrili nehomologijo v ITS 1 in ITS 2 regijah. Na osnovi razlik so nato razvili specifični hibridizacijski sonde in PCR začetne oligonukleotide, ki se uporabljajo v diagnostiki obeh vrst. Ista skupina raziskovalcev je uporabila specifične začetne oligonukleotide pri testiranju kanadskih izolatov gliv *V. albo-atrum*, *V. dahliae* in *V. tricorpus* iz krompirja. Pri tem so odkrili izolat *V. albo-atrum*, ki ni dal pozitivnega signala po PCR reakciji. Omenjenemu izolatu so določili nukleotidno zaporedje ITS regij in ugotovili razliko v 17 baznih parih v primerjavi z ostalimi izolati *V. albo-atrum*. Na osnovi teh razlik so nato razvili specifične začetne oligonukleotide in testirali še izolate *V. albo-atrum* iz Anglije in Nizozemske. Tudi med temi izolati so našli dve skupini izolatov *V. albo-atrum* iz krompirja, kar je dokazovalo odkritje nove podskupine te glive, ki se sedaj pojavlja pod oznako Grp2¹⁷, medtem ko skupino Grp1 predstavljajo izolati ostalih gostiteljskih rastlin (Robb in sod., 1993).

Obsežnejšo raziskavo Grp2 skupine sta opravila Mahuku in Platt (2002), ki sta z RAPD metodo in razrezom IGS regije (IGS-RFLP) analizirala 21 izolatov *V.*

¹⁷ Grp: kratica angleške besede group (skupina)

tricornis in 64 različnih izolatov *V. albo-atrum*, od katerih jih je 21 predstavljalo skupino Grp2. RAPD analiza je jasno določila razlike med vsemi tremi skupinami izolatov in določitvijo 34 % povprečnega koeficienta sorodnosti med Grp2 in *V. tricornis* ter 35 % med Grp2 in ostalimi izolati *V. albo-atrum* (Grp1). Variabilnost je izrazila tudi analiza IGS regije, ki je prav tako jasno določila razlike med omenjenimi skupinami. Raziskovalca na osnovi rezultatov navajata na možnost potrditve Grp2 skupine kot nove vrste rodu *Verticillium*, ki je najverjetneje nastala z hibridizacijo izolata *V. albo-atrum* iz skupine Grp1 in *V. tricornis*.

Skoraj istočasno so Collins in sod. (2003) objavili podobno raziskavo, kjer so z AFLP metodo in analizo ITS regij proučevali izolate *V. dahliae*, ki parazitirajo križnice. Rezultati so določili dve podskupini izolatov *V. dahliae* var. *longisporium*, od katerih jih večina predstavlja skupino imenovano α , ostali izolati pa skupino β . Določeni skupini nimata povezave s patogenostjo ali geografskim izvorom. Molekularna analiza je prav tako ločila haploidne izolate *V. dahliae* iz križnic od izolatov ostalih gostiteljskih rastlin, kar skupaj kaže na tri skupine izolatov, ki so prilagojeni parazitiranju križnic. Avtorji navajajo, da zaradi visoke variabilnosti skupin α in β izolatov *V. dahliae* var. *longisporium* predlagano ime za vse izolate *V. longisporium* ni primerno.

Molekularni markerji so se izkazali tudi pri določanju razlik med različno virulentnimi izolati, ki so največkrat produkt vpliva monokulturnega gojenja poljščin. Tako so španski raziskovalci z RAPD metodo ugotovili razlike med bolj (*D*) in manj (*ND*) virulentnima patotipoma glive *V. dahliae*, ki parazitirata bombaž in oljke. Identificiranim specifičnim markerjem so določili nukleotidno zaporedje na osnovi katerega so razvili za vsak patotip specifične začetne oligonukleotide (SCAR), s katerimi so nato analizirali več izolatov iz različnih geografskih območij. Analiza s SCAR markerji je identificirala virulentne izolate iz Kalifornije in Kitajske, kar potrjuje hipotezo, da je bil patotip *D* v Španijo prenesen najverjetneje iz ene od teh dveh držav (Perez-Artes in sod., 2000).

Z dosedanjimi raziskavami so raziskovalci določili razlike med fitopatogenimi vrstami gliv iz rodu *Verticillium* in razlike med nekaterimi izolati iz različnih gostiteljev. Na osnovi opisanih raziskav z molekularnimi metodami se tako pri *V. albo-atrum* priznavata dve osnovni skupini:

- Grp1, ki vključuje podskupino L (izolati iz lucerne) in NL (izolate ostalih gostiteljskih rastlin, kamor uvrščamo tudi izolate iz hmelja) in
- Grp2, ki predstavlja posebno skupino izolatov iz krompirja.

Izolati glive *V. dahliae* kažejo višji nivo variabilnosti, ki pa razen anfigaploidnih izolatov *V. dahliae* var. *longisporium* in haploidnih izolatov iz mete, bombaža, paradižnika in solate ne kažejo jasnih fizioloških skupin oz. prilagoditve na določeno skupino gostiteljskih rastlin.

5 GENOM IN GENETSKI MEHANIZMI NASTANKA VARIABILNOSTI

5.1 Genom

Večina izolatov *Verticillium* spp. je haploidna, kljub temu pa so v naravi in v laboratorijskih kulturah pogosti tudi homozigotni diploidni konidiji, ki so genetsko nestabilni in so posledica napak pri deljenju celic. Typas in Heale (1980) sta ugotovila, da je v naravi pogostnost nastanka homozigotnih diploidnih konidijev 10^{-3} do 10^{-4} , ki pa se z višanjem temperature povečuje. Vsebnost DNA v nekalečem haploidnem konidiju glive *V. albo-atrum* znaša od 0,025 – 0,030 pg, kar ustreza približno $2,8 \times 10^7$ baznih parov (Typas in Heale, 1980). Colins in sod., (2003) so s pomočjo pulzne elektroforeze oz. kariotipizacije potrdili 7 kromosomov pri *V. albo-atrum* in določili velikost genoma med 28-30 Mb, v primeru *V. dahliae* pa le 6 kromosomov z oceno velikosti genoma 28-29 Mb. Podobno kariotipizacijo na *V. dahliae* so opravili tudi Pantou in Typas, (2005), vendar so zraven vključili tudi gensko mapiranje s katerim so potrdili 7 kromosomov velikosti 6.7, 5.6, 4.4, 3.4, 3.1, 3.1 in 2.4 Mb (milijon baznih parov). Zadnji podatki, ki jih navaja Broad Institute, Cambridge, Massachusetts, ZDA o velikosti genoma in so pridobljeni na osnovi sekvenciranja znašajo 32 Mb pri *V. albo-atrum* in 33 Mb pri *V. dahliae*.

Typas in Heale (1980) sta proučevala tudi celični cikel ter v raziskavo zajela populacijo več kot 500 konidijev, hif in trajnih organov izolatov *V. albo-atrum* in *V. dahliae*. Pri tem so konidiji po 6-10 urah inkubacije pri sobni temperaturi prišli v fazo S (DNA podvojevanje) in po 30-90 minutah preko faze G2 do celične delitve (faza M). Pred naslednjim ciklom je faza G1 (faza med delitvijo in ponovnem začetku podvojevanja DNA) trajala približno 3 ure. V raziskavi sta potrdila haploidnost in enojedrnost celic hif in trajnih organov, ki pa so v primerjavi s konidiji le redke pričele s fazo S.

5.2 Genetski mehanizmi nastanka variabilnosti

Pri fitopatogenih glivah iz rodu *Verticillium* spolni stadij še ni bil odkrit, zato lahko kot o viru variabilnosti govorimo samo o mutacijah in genetskih rekombinacijah (Heale, 2000). Obseg s katerim mutacije vplivajo na variabilnost v populaciji je določen z dedovanjem deležem mutacij, stopnjo ploidnosti, obsegom populacije in

lastnostim mutant. Mutacije lahko zajemajo delecije, insercije, inverzije, translokacije ali v širšem smislu tudi večje spremembe med kromosomi, kot je nastanek aneuploidije (Burtdon in Silk, 1997). Večino mutacij je recesivnih, ki pa se pri haploidnih organizmih kot so bakterije in nekatere glive lahko takoj izrazijo, pri diploidnih organizmih pa šele v homozigotnem stanju (Agrios, 1997).

Na začetku druge polovice prejšnjega stoletja je bila pri proučevanju rodu *Verticillium* v razmahu predvsem biokemična genetika in proučevanje mutantov. Zaradi redkih spontano nastalih genetskih markerjev, ki so bili tudi fenotipsko določljivi, so raziskovalci izvajali inducirane mutacije predvsem z uporabo ultravijoličnih (UV) žarkov in nekaterih visoko mutagenih snovi, kot sta etidijev bromid (EtBr) in barvilo akriflavin (Hastie in Heale, 1984). Odnos med UV obsevanjem in mortaliteto konidijev ter visoka stopnja mutacij pri *V. albo-atrum* in *V. dahliae* je potrdila haploidnost genoma pri večini izolatov, medtem ko so pri diploidnih izolatih *V. dahliae* var. *longisporium* opazili nižji nivo nastanka mutacij (Typas in Heale, 1976). Poleg omenjenega so obsevanja z UV žarki pri *V. albo-atrum* in *V. dahliae* dokazala obstoj še neraziskanega popravljalnega mehanizma, ki se inducira na svetlobi (Puhala, 1976). Kljub relativni preprostosti genoma, raziskave velikega števila izolatov iz rodu *Verticillium* in njihovih biokemičnih ter morfoloških mutantov kažejo genetsko visok nivo stabilnosti (Puhala, 1971).

Raziskave mehanizmov patogenosti in virulence *V. albo-atrum* in *V. dahliae* so vključevale predvsem mutante z motenim izločanjem glikopeptidov in hidrolitičnih encimov, ki so vključeni v proces patogeneze. Na splošno rezultati niso pokazali pozitivne korelacije med mutanti in patogenostjo, kot glavni razlog pa se največkrat navajajo tehnični problemi v smislu pridobitve mutantov z nično aktivnostjo, vplivom večjega števila encimov na patogenezo in encimske regulacije, ki se razlikuje v *in vitro* pogojih od tistih v *in vivo* (Heale, 1988).

Pomemben mehanizem nastanka novih patotipov in variabilnosti anamorfnih gliv imenujemo paraseksualni cikel, ki je bil prvič opisan leta 1953 pri glivi *Aspergillus nidulans* (Pontecorvo in sod., 1953), nekaj let kasneje pa tudi na hmeljnih izolatih *V. albo-atrum* (Hastie, 1964). Paraseksualni cikel je proces, ki je odvisen od nastanka anastomoze ali združitve dveh somatsko kompatibilnih hif z različnim komplementarnim genotipom. Anastomoza omogoča migracijo jeder in nastanek heterokariotskih celic v katerih prihaja do združitve jeder in posledično nastanka heterozigotnega diploidnega jedra. Mitotične delitve takšnih jeder lahko potekajo normalno in producirajo identične hčerinske celice ali pa prihaja do nepravilnosti in posledično genetskih rekombinacij. Sledi proces haploidizacije, kjer diploidna jedra z naslednjimi delitvami izgubljajo kromosome in se pri *Verticillium* spp. po približno 4 tednih inkubacije vrnejo v haploidno obliko (Heale, 1988). Pogostnost nastanka paraseksualnega cikla ni znana, znano pa je, da je pogostnost nastanka

diploidov iz haploidov (približno 10^{-6} na jedrno delitev) veliko manjša od pogostnosti nastanka haploidov iz diploidov (približno 10^{-2} na jedrno delitev) (Hastie in Heale, 1984). V naravi verjetno mesto nastanka hifnih anastomoz in paraseksualnega cikla predstavlja mikrookolje površine koreninskega sistema gostiteljskih rastlin, proces pa je mogoč in tudi dokazan znotraj nekaterih koloniziranih tolerantnih plevelnih vrst (Clarkson in Heale, 1985; Heale, 2000).

McGeary in Hastie (1982) sta s pomočjo paraseksualnega cikla proučevala genetske mehanizme nastanka patogenosti. Pri tem sta hibridizirala izolate *V. albo-atrum* iz paradižnika, ki so nepatogeni lucerni in patogene izolate iz lucerne. Dobljeni rekombinanti so lahko povzročali obolenja tako na paradižniku kot na lucerni, kar navaja k zaključku, da je patogenost najverjetneje kontrolirana z več geni. Poleg hibridizacij med izolati iste vrste je bilo več raziskav uspešnih pri hibridizaciji izolatov vrst *V. albo-atrum* in *V. dahliae*, kjer so opazili počasnejšo haploidizacijo in nižjo stopnjo genetskih rekombinacij, kar je posledica nehomologije med genomoma (Fordyce in Green, 1964).

Med izolati prihaja tudi do inkompatibilnosti oz. nezmožnosti tvorbe anastomoze in heterokariotskih celic. Testiranja inkompatibilnosti omogočajo ugotavljanje genetskih razlik med izolati ter določanja vegetativno kompatibilnih skupin (VCG), ki si potencialno lahko delijo skupni bazen genov. Tako so pri *V. albo-atrum* na osnovi testiranja velikega števila izolatov iz različnih gostiteljskih rastlin določili dve VCG skupini od katerih prva predstavlja izolate iz lucerne, v drugi pa so izolati iz ostalih gostiteljskih rastlin vključno s hmeljem (Correll in sod., 1988; Rowe, 1995). Proučevanja različno virulentnih hmeljnih izolatov *V. albo-atrum* so pokazala kompatibilnost med vsemi izolati, kljub temu pa je bila opažena večja stopnja kompatibilnosti znotraj posamezne skupine izolatov (Clarkson in Heale, 1985).

Med izolati *V. dahliae* so določene štiri VCG skupine v katerih ni odkritih strogih povezav s patogenostjo ali geografsko lokacijo, kljub temu pa je znano, da skupina VCG4 večinoma predstavlja izolate iz krompirja in VCG1 iz bombaža (Rowe, 1995). Pomembno je omeniti tudi vpliv različnih tehnik in pogojev testiranja na mehanizme kompatibilnosti, kar se pri pregledu zgodnejše literature tovrstnih analiz opazi v obliki nasprotujočih se dejstev. Zaradi tega se za določanje VCG skupin in testiranje izolatov sedaj večinoma uporabljajo tehnike z *nit* (nitratnimi) mutanti, ki kljub mutiranju nimajo posebnega vpliva na kompatibilnost, ob hkratnem testiranju mednarodno referenčnih testnih izolatov (Katan, 2001).

V redkih primerih so obsežna testiranja odkrila tudi izolate, ki so kompatibilni med izolati različnih VCG skupin, kar jim omogoča dostop do širokega vira genov in na nek način biološko predstavljajo mostove med inkompatibilnimi skupinami (Katan,

2001). Obseg izmenjave genov med izolati je torej odvisen od paraseksualnega cikla in mehanizmov inkompatibilnosti, ki pa lahko ob določenih pogojih odpovejo ali celo mutirajo, kar omogoči izmenjavo genov med sicer inkompatibilnimi skupinami ali celo vrstami. Hipotetični dokaz za to predstavlja diploid *V. dahliae* var. *longisporum*, za katerega se domneva, da je nastal najverjetneje s hibridizacijo dveh izolatov *V. albo-atrum* in *V. dahliae* (Heale, 2000; Karapa in sod., 1997).

6 ZAKLJUČEK

Rod *Verticillium* zaradi svoje heterogenosti še vedno predstavlja enega od izzivov mikološke taksonomije, kjer nove molekularno analitične tehnike omogočajo revizije dosedanjih taksonomskih ureditev. Podobne izzive predstavlja tudi na področju fitopatologije, saj verticilijske uvelosti globalno na letni ravni povzročijo za več milijard dolarjev škode in se po pomembnosti uvrščajo takoj za škodami, ki jih povzročajo plesnivke, pepelaste plesni in povzročitelji pegavosti. Proučevanja variabilnosti fitopatogenih vrst in raziskave interakcij z rastlinami vsakoletno prispevajo nova znanja, ki so pomembna za razvoj strategij preprečevanja tako na nacionalni kot globalni ravni. Velik deficit in neraziskanost še vedno predstavlja razjasnitev molekularnih osnov delovanja patogenosti in virulence. Prav tako še vedno niso v celoti pojasnjeni mehanizmi nastanka novih vrst, hibridov, ras in patotipov, ter njihova globalna migracija. Raziskati je potrebno interakcije med geni, ki so nosilci odpornosti in determinantami posameznih patotipov in ras. Vsa ta vprašanja, ki se zastavljajo raziskovalcem že več desetletij se bodo v prihodnjem desetletju zaradi razvoja molekularnih in ostalih biotehnoških tehnik najverjetneje razjasnila in postavila nove temelje v raziskavah gliv iz rodu *Verticillium* in ostalih talnih patogenov.

7 VIRI

- Agrios G. N. *Plant Pathology*. 4th edi. San Diego, Academic press. 1997;635.
- Barbara D.J., Clewes E. Plant pathogenic *Verticillium* species: how many of them are there? *Molecular Plant Pathology*. 2003; (4):297-305.
- Bhat R.G., Subbarao K.V. Host range specificity in *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*. 1999; (89): 1218-1225.
- Burton J.J., Silk S. Sources and patterns of diversity in plant-pathogenic fungi. *Phytopathology*. 1997; (87):664-669.
- Busch L.V., Smith E.A. Reaction of a number of cultivated plants and weed species to an alfalfa isolate of *Verticillium albo-atrum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 1982; (4):266-268.

- Carder J.H., Barbara D.J. Molecular variation and restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) within and between six species of *Verticillium*. *Mycological Research*. 1991; (8):935-942.
- Clarkson J.M., Heale J.B. Heterokaryon compatibility and genetic recombination within a host plant 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):364-376.
- Corda A. *Icones fungorum* 2. Prague. Calve J.G.: 1838:15.
- Correll J.C., Gordon T.R., McCain A.H. Vegetative compatibility and pathogenicity of *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology*. 1988; (78):1017-1021.
- Dobinson K. F., Patterson N. A., White G. J. DNA fingerprinting and vegetative compatibility analysis indicate multiple origins for *Verticillium dahliae* race 2 tomato isolates from Ontario. *Canada-Mycological Research*. 1998; (102):1089-1095.
- Fordyce C., Green R.J. Mechanisms of variation in *Verticillium albo-atrum*. *Phytopatholog.* 1964; (54):795-798.
- Gams W., A contribution to the knowkege of nematophagous species of *Verticillium*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 1988; (94):123-148.
- 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.
- Hastie A.C., Heale J. B. Genetics of *Verticillium*. *Phytopathologia Mediterranea*. 1984; (23):130-162.
- Hastie A.C. The parasexual cycle in *Verticillium albo-atrum*. *Genetic Research*. 1964; (5):305-315.
- Heale J. B. Diversification and Speciation in *Verticillium*-an Overview. V: *Advances in Verticillium, research and disease management*. Tjamos E. C., Rowe R. C., Heale J. B., Fravel D. R., (eds.). St. Paul, Minnesota, APS Press. 2000:1-14.
- Heale J. B., *Verticillium* spp., The cause of vascular wilts in many species. *Advances in Plant Pathology*. 1988:291-312.
- Heale J.B., *Verticillium* wilt of alfalfa, background and current research. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 1985; (7):191-198.
- Hedlund T. Om några ssjukdomar och skador på våra lantbruksväxter, 1922. *Allmän Jordbrukstidskrift*. 1922, (5):166-168.
- Hoffman H. Spermarien bei einem Fadenpilze. *Botanische Zeitung*. 1854, (12):249-254.
- IndexFungorum, The CABI Bioscience and CBS database of fungal names. <http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=199278>. (4.11.2011).
- Isaac I., A comparative study of pathogenic isolates of *Verticillium*. *Transactions of the British Mycological Society*. 1949; (32):137-157.
- Isaac I., Keyworth G.W. *Verticillium* wilt of the hop (*Humulus lupulus*) III. A study of the pathogenicity of the isolates from fluctuating and from progressive outbreaks. *Annals of Applied Biology*. 1948; (35):243-249.

- Karapapa V.K., Bainbridge B.W., Heale J.B. Morphological and molecular characterization of *Verticillium longisporum* comb. nov., pathogenic to oilseed rape. *Mycological Research*. 1997; (101):1281-1294.
- Katan T. Vegetative compatibility in populations of *Verticillium*-an overview. V: *Advances in Verticillium, research and disease management*. Tjamos E. C., Rowe R. C., Heale J. B., Fravel D. R. (ur.). St. Paul, Minnesota, APS Press. 2001:69-86.
- 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.
- 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*. 2002; (3):71-79.
- McGeary F. M., Hastie A.C. Hybridisation of *Verticillium albo-atrum* strains from tomato and lucerne. *Physiological Plant Pathology*. 1982; (21):437-444.
- 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):1-11.
- Nelson R. *Verticillium* wilt of peppermint. *Michigan Agricultural Station Technical Bulletin*. 1950; (221):1-260.
- Okoli C.A.N., Carder J.H., Barbara D.J. Molecular variation and sub-specific groupings within *V. dahliae*. *Mycological Research*. 1993 (97):233-239.
- Okoli C.A.N., Carder J.H., Barbara D.J. Restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) and the relationships of some host adapted isolates of *Verticillium dahliae*. *Plant Pathology*. 1994; (43):33-40.
- Pantou P.M., Typas M.A. Electrophoretic karyotype and gene mapping of the vascular wilt fungus *Verticillium dahliae*. *FEMS Microbiological Letters*. 2005; 245(2):213-220.
- Pegg G.F. The impact of *Verticillium* diseases in agriculture. *Phytopathologia Mediterranea*. 1984; (23):176-192.
- Pegg, G.F., Brady B.L. *Verticillium* Wilts. Wallingford, *CABI Publishing*. 2002: 552.
- Perez-Artes E., Garcia-Pedrajas M.D., Bejarano-Alcazar J., Jimenez-Diaz R.M. Differentiation of cotton-defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* by RAPD and specific PCR analyses. *European Journal of Plant Pathology*. 2000; (106):507-517.
- Pontecorvo G., Roper J.A., Forbes E. Genetic recombination without sexual reproduction in *Aspergillus niger*. *Journal of General Microbiology*. 1953; (8):198-210.
- Puhalla J.E. Genetics of the fungus. V: *Verticillium* wilt of cotton. Ranney C.D. (eds.). Proceedings of a Work Conference, Texas, National Cotton Pathology Research Laboratory College Station. 1971:39-42.
- Puhalla J.E., Glycerol as a selective agent for auxotrophs of *Verticillium dahliae*. *Journal of General Microbiology*. 1976; (94):409-412.
- Qin Q.M., Vallad G.E., Ming Wu.B., Subbarao K.V. Phylogenetic analyses of phytopathogenic isolates of *Verticillium* spp. *Phytopathology* 2006; (96):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*. 2003; (87):633-638.

- 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.
- Rowe R.C. Recent progress in understanding relationships between *Verticillium* species and subspecific groups. *Phytoparasitica*. 1995; (23):31-38.
- Schnathorst W.C. Some biological aspects of *Verticillium albo-atrum*: Cotton Disease Research in the San Joachin Valley, California. Research Report 1968-1969. *Division of Agricultural Science*, University of California. 1971:37-41.
- Schnathorst W.C., Sibbett G.S. The relation of strains of *Verticillium albo-atrum* to severity of *Verticillium* wilt in *Gossypium hirsutum* and *Olea europaea* in California. *Plant Disease Reporter*. 1971; (55):780-782.
- Seefelder S., Seigner E., Niedermeier E., Radišek S., Javornik B. Genotyping of verticillium pathotypes in the hallertau. V: SEIGNER, Elisabeth (ur.). *Proceedings of the Scientific Commission IHGC*, León, Spain, 21-25 June 2009:67-69.
- Sewell G.W.F., Wilson J. F. The nature and distribution of *Verticillium albo-atrum* strains highly pathogenic to the hop. *Plant Pathology*. 1984; (33):39-51.
- Stark C. Das Auftreten der *Verticillium*-Tracheomykosen in Hamburger Gartenbau-kulturen. *Gartenbauwissenschaft*. 1961; (26):493-528.
- Typas M.A., Heale J.B. DNA content of germinating spores, individual hypha cells and resting structure cells of *Verticillium* spp. Measured by microdensitometry. *Journal of General Microbiology*. 1980; (121):231-242.
- Typas M.A., Heale J.B. Heterokaryosis and role of cytoplasmic inheritance in dark resting structure formation by *Verticillium* spp. *Molecular and General Genetic*. 1976; (146):17-26.
- Zare R. A. Revision of plant associated *Verticillium* species. *Rostaniha*. 2003; (4):29-54.

PREIZKUŠANJE DVEH METOD TESTIRANJA ODPORNOSTI SONČNIC NA GLIVO *ALTERNARIASTER HELIANTHI*

Sebastjan RADIŠEK¹⁸, Silvija FERK¹⁹

UDC / UDK 633.494:631.52:632(045)
izvirni znanstveni članek / original scientific article
prispelo / received: 15. 10. 2011
sprejeto / accepted: 01. 12. 2011

Izvleček

Ocenjevanje odpornosti sort in ostalega genetskega materiala na polju je močno odvisno od vremenskih pogojev, začetnega bolezenskega potenciala in različnega dozorevanja sort, kar velikokrat prispeva k dolgotrajnim postopkom pridobivanja realnih ocen in različnim vrednotenjem rezultatov. Iz omenjenega raziskovalci stalno razvijajo nove postopke vrednotenja, ki ponujajo hitrejše vrednotenje odpornosti v čim bolj uniformnih pogojih. Rezultati testiranj so ključnega pomena za izvajanje sortne politike posameznih regij ter žlahtniteljske programe, ki preko selekcij vzgajajo nove odporne sorte in hibride sončnic. V prispevku predstavljamo vpeljavo in preizkušanje dveh metod umetnega okuževanja sončnic z glivo *Alternariaster helianthi* v kontroliranih pogojih rastne komore z namenom razvoja rutinskega postopka vrednotenja odpornosti.

Ključne besede: sončnica, *Helianthus annuus* L., *Alternariaster helianthi*, žlahtnjenje rastlin

COMPARISON OF TWO TESTING ASSAYS TO EVALUATE SUNFLOWER RESISTANCE AGAINST *ALTERNARIASTER HELIANTHI*

Abstract

The evaluation of how well varieties and other genetic material resist disease under field conditions is influenced by seasonal and environment conditions, variations in disease potential and differences in maturity between genotypes. Such assessments

¹⁸ Dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec,
e-pošta: sebastjan.radisek@ihps.si

¹⁹ Dipl. inž. hort., prav tam, e-pošta: silvija.ferk@ihps.si

demand longer procedures to obtain accurate evaluations of disease resistance; therefore researchers continue to develop new testing methods which offer faster and more reliable testing in uniform conditions. Disease resistance data presents important information for development of variety policy in a particular region and for breeding programs which select to breed new, resistant plant material. The manuscript presents implementation and comparison of two methods of artificially inoculating sunflowers by *Alternariaster helianthi* in the controlled conditions of a growing chamber.

Key words: sunflower, *Helianthus annus* L., *Alternariaster helianthi*, plant breeding

1 UVOD

Gliva *Alternariaster helianthi* (Hansford) E. G. Simmons (sin. *Helminthosporium helianthi* Hansford; *Alternaria helianthi* (Hansf.) Tubaki & Nishihara) je povzročiteljica temne pegavosti sončnic, ki spada med najbolj nevarne bolezni te pomembne kmetijske rastline. Bolezen najprej prepoznamo po temnih nekrotičnih pegah na listih, ki z napredovanjem povzroči propad listja, kar močno vpliva na zmanjšanje asimilacijske površine in s tem na prezgodnje dozorevanje sončnic. Okužbe na stebelu in zadnji strani koškov se izrazijo v obliki elipsastih in rahlo vdratih temnih peg, ki lahko tudi razpokajo. Občutljivost tkiva se veča s starostjo, kar pomeni, da so starejši listi mnogo bolj okuženi kot mladi še razvijajoči listi (Allen in sod., 1983). Največje izgube pridelka (do 80 %) beležimo pri izbruhih v fazi cvetenja, ko rastline pričnejo z intenzivno mobilizacijo hranil v smeri razvoja semena (Carson, 1985). Razvoj bolezni je močno odvisen od vremenskih pogojev. Tako največje izbruhe in škode beležimo v tropskih in subtropskih regijah, kjer dolgotrajna obdobja pogostih padavin in hkratne visoke temperature omogočajo hiter bolezenski razvoj in posledično veliko škodo. Poleg sončnic lahko gliva *A. helianthi* okužuje tudi ostale rastline iz rodu *Helianthus* in nekaj rastlin iz sorodnih rodov kot je *Rudbeckia*. Gliva se ohranja in širi predvsem z okuženim semenom in ostanki okuženih rastlin, zato preprečevanje temelji predvsem na širokem kolobarju, razkuževanju semena in odpornih sortah. Škropljenje s fungicidi je z navadnimi traktorskimi škropilnicami možno samo v zgodnjem obdobju rasti, za kasnejšo uporabo pa so primerne posebej prilagojene škropilnice, v nekateri deželah pa uporabljajo tudi letala. Iz omenjenega sodobna pridelava sončnic večinoma temelji na odpornih sortah in hibridih, ki bistveno prispevajo k zmanjšanju razvoja bolezni. Setev odpornih sort tako predstavlja najcenejši način preprečevanja bolezni in je hkrati najmanj obremenjujoča za okolje, zato je vzgoja novih odpornih sort in hibridov bistvenega pomena za razvoj rastlinske produkcije. Ocenjevanje odpornosti sort in ostalega genetskega materiala na polju je močno

odvisno od vremenskih pogojev, začetnega bolezenskega potenciala in različnega dozorevanja sort, kar velikokrat prispeva k dolgotrajnim postopkom pridobivanja realnih ocen in različnim vrednotenjem rezultatov. Zato raziskovalci stalno razvijajo nove postopke vrednotenja, ki ponujajo hitrejše vrednotenje odpornosti v čim bolj uniformnih pogojih. Rezultati testiranj so ključnega pomena za izvajanje sortne politike posameznih regij ter žlahtniteljske programe, ki preko selekcij vzgajajo nove odporne sorte in hibride sončnic. V prispevku predstavljamo vpeljavo in preizkušanje dveh metod umetnega okuževanja sončnic z glivo *A. helianthi* v kontroliranih pogojih rastne komore z namenom razvoja rutinskega postopka vrednotenja odpornosti.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Izolacija glive in morfološka identifikacija

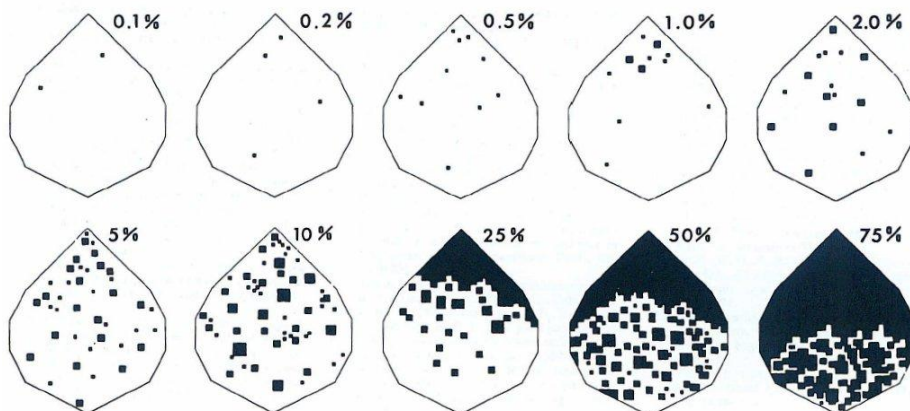
Izolacijo glive *A. helianthi* smo izvršili iz prizadetega tkiva listov sončnice, ki smo jih vzorčili na rastlinah sorte Kongo na poskusnem polju IHPS v Žalcu v letu 2010. Okužene liste smo predhodno mikroskopsko pregledali in determinirali prisotnost *A. helianthi* na osnovi morfoloških značilnosti (Simmons, 2007). V sterilnih pogojih smo izvedli površinsko sterilizacijo z namakanjem tkiva (1 min) v 2 % raztopini natrijevega hipoklorida (NaOCl). Koščke tkiva smo nato položili v petrijevke s krompirjevim dekstroznim agarjem (PDA-potato dextrose agar; pH 5.2; 50 mg streptomycin sulfat/l) in inkubirali pri sobni temperaturi v temi. Po 5 dneh smo izolirane kulture mikroskopsko pregledali in izolate *A. helianthi* precepili na sveže PDA in češpljevo laktozno gojišče (PLYA) (Talboys, 1960). Izolate smo do uporabe hranili v hladilniku pri temperaturi 4 °C.

2.2 Umetno okuževanje

Vse poskuse smo izvajali v rastni komori (Kambič, RK-13300), pri čemer smo rastline izpostavili 80 % relativni zračni vlagi in 12-urni fotoperiodi fluorescentne svetlobe (L 58W/77; Fluora, Osram). Pri tem smo v času osvetlitve temperaturo komore naravnali na 20° C, v temni fazi pa na temperaturo 15° C. Poskuse smo izvajali na sortah Duško, Baća, Srijemac, Kongo, Rimi PR, Irigi (Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Srbija) in NK Ferti Oleic (Syngenta). Kot vir okužbe smo izbrali reprezentativni izolat *A. helianthi* (No. IHPS 2010), ki smo ga z namenom indukcije sporulacije 2-3 tedne gojili na PLYA gojišču v temi pri sobni temperaturi.

Metoda 1

Testiranje temelji na foliarnem okuževanju z znano koncentracijo inokula in predstavlja uveljavljeno standardno metodo testiranja, ki so jo razvili Kong s sod., 1995. V našem poskusu smo inokulum pripravili s spiranjem kultur *A. helianthi* z sterilno destilirano vodo. Infekcijski potencial inokula smo s Thoma števno komoro umerili na koncentracijo 2×10^5 konidijev/ml. Za testiranje odpornosti posamezne sorte smo vključili 10 rastlin, ki smo jih okužili v fazi prvih dveh pravih listov. Rastline smo foliarno inokulirali z ročno razpršilko in takoj pokrili s prozorno PVC vrečko z namenom ohranjanja visoke zračne vlage in omočenosti listov. Pojav bolezni smo ocenjevali v intervalih 3, 7 in 10 dni po inokulaciji, kot delež prizadete površine kličnih in prvih dveh pravih listov z vizualnim ključem (slika 1), ki ga je izdelal Allen s sod. (1983). Prisotnost glive *A. helianthi* na prizadetem tkivu smo potrdili s svetlobnim mikroskopom in reizolacijo izolata.



Slika 1: Vizualni ključ za oceno deleža okužb sončnic z glivo *Alternariaster helianthi* na listih (Allen s sod, 1983)

Figure 1: Pictorial assessment key for *Alternariaster helianthi* infections on sunflower leaves (Allen et al., 1983)

Metoda 2

Okužba rastlin temelji na setvi rastlin v okužen substrat. Metoda ni standardna in se večinoma uporablja pri epidemioloških študijah patogenih organizmov. V primeru epidemioloških študij *A. helianthi* so to metodo razvili in uporabili Jeffery in sod. (1984). V našem poskusu smo inokulum pripravili z namakanjem narezanih delov sončnic (< 5cm) v 2 % raztopini glukoze in 0,1 % raztopini kalijevega nitrata preko noči. Namočen substrat smo nato parno sterilizirali (1h; 120°C; 1,5Bar) in okužili z dodajanjem celih kultur *A. helianthi* skupaj z PLYA agarjem (5 kultur/500g substrata). Sledila je 2-3 tedenska inkubacija v temi pri sobni temperaturi ob tedenskem ročnem mešanju substrata. Po inkubaciji smo inokulum zmešali s

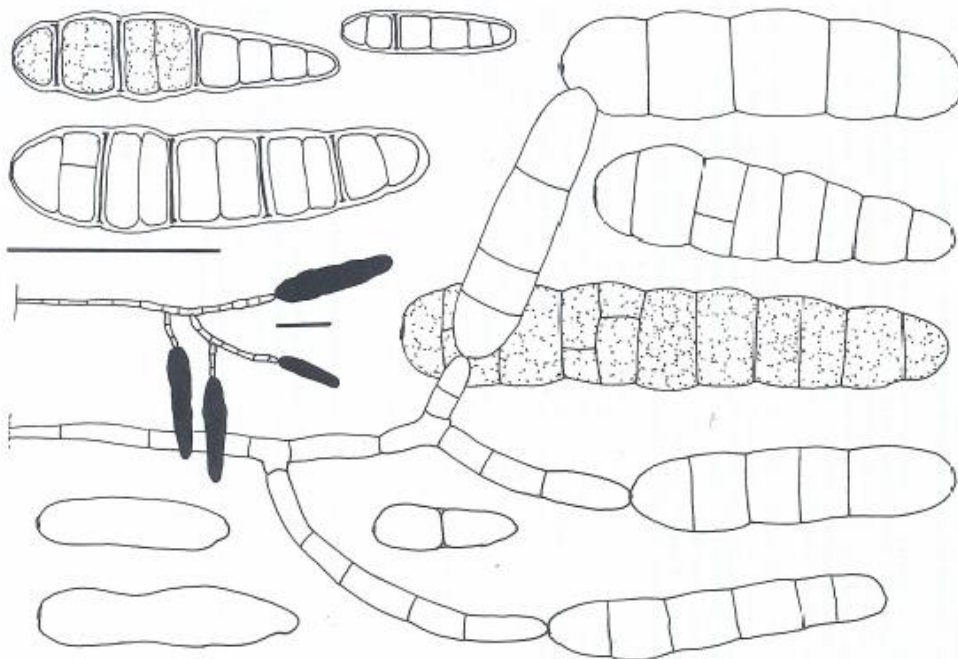
sterilnim rastnim substratom v razmerju 50:50 in vanj posejali 60 semen za posamezno sorto. Kontrolne rastline smo posejali v neokuženo mešanico ostankov sončnic in substrata v enakem razmerju in številu semen. Rastline smo po vzniku enako kot pri metodi foliarnega okuževanja gojili pod PVC vrečkami. Pojav bolezní smo ocenjevali 7 in 14 dni po vzniku kot število rastlin s prisotnimi bolezenskimi znamenji in število propadlih rastlin zaradi napredovanja okužbe. Ocenili smo tudi vznik v okuženem in neokuženem substratu.

3 REZULTATI Z DISKUSIJO

V Sloveniji se število površin posajenih s sončnicami v zadnjih letih povečuje, predvsem zaradi zahtev upoštevanja kolobarja v skladu z integrirano pridelavo poljščin. Proizvodnja je večinoma usmerjena v pridelavo semena ali za zeleni podor, ponekod pa tudi kot surovina za bioplinarne in izdelavo biodizla. Izbira sort, ki so dostopne kmetom, je precej omejena, mnogi pa za setev uporabljajo seme, ki je namenjeno za prehrano ptic ali pa uporabljajo domače seme. Skladno z večanjem površin opažamo na območju Savinske doline tudi večjo frekvenco okužb sončnic z glivo *A. helianthi*. Med glavnimi razlogi za posamezne večje izbruhe smo identificirali uporabo nerazkuženega domačega semena, setev na isto površino in vremenske pogoje, ki lahko močno vplivajo na razvoj bolezní. Ozek sortni izbor in pomanjkanje podatkov o odpornosti prav tako prispevajo svoj delež k nastanku izbruhov, zato smo v okviru poskusov pričeli z razvojem hitrih in zanesljivih metod testiranja odpornosti, s katerimi lahko vrednotimo odpornost obstoječih in novih sort z izolati *A. helianthi*, ki predstavljajo populacijo slovenskih pridelovalnih območij.

3.1 Morfološka identifikacija

Reprezentativne izolate *A. helianthi* smo identificirali na osnovi osnovnih morfoloških lastnosti, ki so jih razvili na rastlinskem tkivu in gojiščih PDA ter PLYA (slika 2). Kulture izolatov so razvile temno rjave septirane in razvejane hife na katerih smo odkrili razvejane kondiofore velikosti od 50 -150 μm . Najbolj prepoznaven ključ predstavljajo svetlo rjavi konidiji elipsate oblike s 5 -10 septami in zaobljenimi konci, velikosti 25 – 100 μm x 10-30 μm . Primerjava rasti in razvoja kultur na PDA in PLYA je pokazala višji nivo sporulacije *A. helianthi* na PLYA gojišču, zato smo to gojišče uporabili pri pripravi inokula za namene umetnih okužb.



Slika 2: *Alternariaster helianthi*: konidiji in konidiofori, črta = 50 μ m (Simmons, 2007)

Figure 2: *Alternariaster helianthi*: conidia and conidiophores, bar = 50 μ m (Simmons, 2007)

3.2 Metoda 1

Pri vpeljavi in preizkušanju foliarnega okuževanja smo potrdili pomembnost zagotavljanja vsaj 48 urnega obdobja 100 % vlage po nanosu inokula, ki smo ga zagotovili z rednim pršenjem s sterilno destilirano vodo in prekrivanjem inokuliranih rastlin s PVC vrečkami. Prva bolezenska znamenja smo opazili 2 dni po okužbi, kar potrjuje prvotne ugotovitve o kratki inkubacijski dobi (Allen in sod., 1983). Pri ocenjevanju smo se osredotočili na pojav bolezenskih znamenj na kličnih in prvem paru pravih listov ter stebel. Dinamiko napredovanja bolezni smo spremljali 3, 7 in 10 dni po inokulaciji. Najnižjo stopnjo okužb kličnih listov smo zabeležili pri sorti Bača in Ferti Oleic, medtem ko so bili pri sorti Irigi in Rimi PR klični listi močno kolonizirani. Okužbe pravih listov so se najmanj razvile na sorti Bača, Srijemac, Fert Oleic in Duško, ponovno najvišje deleže okužb pa smo zaznali na sortah Irigi in Rimi. Podobne rezultate beležimo tudi pri ocenjevanju stebelnih lezij, kjer smo najboljše razvoje bolezni ugotovili pri sortah Kongo, Irigi in Rimi PR. Rezultati foliarnega okuževanja (preglednica 1) tako kažejo na

večjo občutljivost sort Kongo, Irgi in Rimi PR. Razlik v inkubacijski dobi med sortami nismo zaznali.

Preglednica 1: Povprečne vrednosti deležev obolelosti tkiva različnih genotipov sončnic z glivo *Alternariaster helianthi* pri metodi foliarne aplikacije inokula v letu 2011

Table 1: Average proportion values of affected tissue of sunflower genotypes by *Alternariaster helianthi* by using foliar inoculum application in 2011

Sorta/hibrid	1. ocena (3 DPI)*			2. ocena (7 DPI)*			3. ocena (10 DPI)*		
	KL	L	S	KL	L	S	KL	L	S
Bača	15,7 ^b	16,4 ^b	1,2 ^a	37,7 ^a	36,3 ^a	3,5 ^a	66,8 ^a	51,5 ^a	12,5 ^b
Srijemac	17,7 ^b	16,0 ^b	1,5 ^b	59,8 ^d	33,8 ^a	3,5 ^a	87,0 ^c	53,3 ^b	7,0 ^a
Ferti Oleic	20,9 ^c	12,6 ^a	1,5 ^b	41,3 ^b	30,5 ^a	2,9 ^a	66,0 ^a	54,3 ^b	7,5 ^a
Duško	15,9 ^b	12,5 ^a	1,0 ^a	43,8 ^b	31,8 ^a	4,2 ^a	83,8 ^c	59,3 ^b	4,5 ^a
Kongo	9,9 ^a	13,4 ^b	5,7 ^b	37,0 ^a	34,3 ^a	15,4 ^b	78,3 ^b	67,5 ^c	27,0 ^c
Irgi	18,5 ^b	23,0 ^c	5,1 ^b	54,8 ^c	43,5 ^b	9,2 ^a	98,8 ^d	80,3 ^d	23,5 ^c
Rimi PR	22,4 ^c	26,3 ^d	7,0 ^c	65,8 ^e	54,0 ^c	23,5 ^c	93,5 ^c	82,3 ^d	33,0 ^d

* DPI - dnevi po inokulaciji; KL - klični listi; L - prvi par pravih listov; S - steblo

** povprečne vrednosti obolelosti z enako črko pri posameznem obravnavanju se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (Duncanov test mnogoterih primerjav, $\alpha = 5\%$)

3.3 Metoda 2

Setev rastlin v okužen substrat ni vplivala na vznik in zgodnje propadanje rastlin, saj nismo ugotovili razlik med setvijo v okužen in neokužen substrat. Prva bolezenska znamenja smo opazili 4-5 dni po vzniku na kličnih listih vseh sort. Pri sortah Irgi, Srijemac in Rimi PR smo pri prvem ocenjevanju zaznali tudi okužbe in lezije na stebelu, ki so povzročile propad rastlin. Nadaljnja 7 dnevna inkubacija je pokazala najnižje število obolelih in propadlih rastlin pri sorti Bača in Irgi, medtem ko je bil delež obolelih in propadlih rastlin pri ostalih sortah primerljiv (preglednica 2).

Preglednica 2: Rezultati testiranja različnih genotipov sončnic na glivo *Alternariaster helianthi* v rastni komori z metodo setve rastlin v okužen substrat v letu 2011.

Table 2: Results of resistance testing of sunflower genotypes against *Alternariaster helianthi* in growing chamber by using infected soil substrate as a source of inoculum 2011.

Sorta	Vznik (%)		1 ocena (7 DPV)*		2. ocena (14 DPV)*	
	Neokužen substrat	Okužen substrat	okužene rastline (%)	propadle rastline (%)	okužene rastline (%)	propadle rastline (%)
Bača	83,3	90,0	7,7	0	22,2	5,5
Irgi	83,3	95,0	11,5	1,0	31,5	10,5
Srijemac	90,0	91,6	30,5	3,2	50,2	17,4
Kongo	90,0	86,6	15,0	0	53,1	8,0
Duško	88,3	98,3	27,4	0	54,9	15,2
Rimi PR	91,6	80,0	35,0	2,5	55,0	16,25
Ferti Ol.	93,3	96,6	11,3	0	59,0	17,5

*DPV- dnevi po vzniku.

4 SKLEPI

- Pri umetnem okuževanju sončnic v pogojih rastne komore ali rastlinjaka z glivo *A. helianthi* je ključnega pomena zagotovitev visoke relativne vlage (90-100%) pri temperaturah med 15-20°C. Inkubacijska doba v takšnih pogojih traja od 24-48 ur. V primeru foliranega okuževanja smo tako prva bolezenska znamenja opazili že 2 dni po inokulaciji, medtem ko so rastline v okuženem substratu razvile simptome po 4-5 dneh. Razlike v inkubacijski dobi med sortami nismo zaznali.
- Foliarno okuževanje omogoča homogen nadzor nad infekcijskim potencialom in enakomerno izpostavljenost vseh rastlin. Okuževanje preko talnega substrata ne zagotavlja uniformne foliarne izpostavljenosti rastlinskega tkiva, vendar se bolj realno približa pogojem na polju in je zato primernejše za proučevanje preživetvenih lastnosti *A. helianthi* ali testiranja odpornosti sončnic na talne patogene.
- V primeru foliarnega okuževanja smo med sortami zaznali večje razlike v odpornosti kot primeru talnega okuževanja. Nobena od sort ni izrazila izrazite odpornosti, identificirali pa smo dve zelo občutljivi sorti Rimi PR in Irgi.
- V primeru talnega okuževanja lahko homogenost in globina okuženega substrata močno vplivata na nastanek infekcij. Jeffery in sod.(1984) so ugotovili, da se število okužb sončnic poveča, če jih izpostavimo močnejšemu

površinskemu inokulu. Če takšen inokulum prekrijemo s tlemi, se število infekcij zniža. Primer sorte Irigi demonstrativno nakazuje na ta efekt, saj je sorta v primeru foliarnega okuževanja izrazila visoko stopnjo občutljivosti, v primeru talnega okuževanja pa smo zaznali nizko število okuženih rastlin.

- Z namenom ponovljivosti je potrebno pogoje testiranja standardizirati in hkrati vključiti referenčne sorte, ki predstavljajo interni standard testiranja.
- Zaradi pojava izgube virulence izolatov se pri testiranjih izogibamo starejšim izolatom, ki se več let ohranjajo na gojiščih. Izolatom je potrebno pred testiranjem določiti virulenco.
- Za testiranje odpornosti sončnic je primernejša metoda foliarnega okuževanja, pri čemer je priporočljivo ocenjevanja nadgraditi še z ocenami sporulacije nekrotičnih peg in merjenjem velikosti peg in lezij. Poskusi kažejo, da so te ocene v močni korelaciji z ocenami, ki so jih pridobili v okviru večletnih poljskih poskusov (Kong s sod., 1997).

Zahvala

Avtorja se zahvalujeta podjetju Syngenta Agro d.o.o in Institutu za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Srbija, za seme sončnic. Poskus je potekal v okviru programa »Spodbujanje zaposlovanja dolgotrajno brezposelnih oseb 2009/2010«; Št pogodbe. 552-1-588/2009-9900-3-1416.

5 VIRI

- Allen S.J., Brown J.F., Kochman J.K. Production of inoculum and field assessment of *Alternaria helianthi* on sunflower. *Plant Disease*. 1983; 67: 665-668.
- Carson M.L. Reaction of sunflower inbred lines to two foliar diseases. *Plant Disease*. 1985; 69: 986-988.
- Jeffery K.K., Lipps P.E., Herr L.J. Effects of isolate virulence, plant age, and crop residues on seedling blight of sunflower caused by *Alternaria helianthi*. *Phytopathology*. 1984; 74: 1107-1110.
- Kong G.A., Kochman J.K., Brown J.F. A greenhouse assay to screen sunflower for resistance to *Alternaria helianthi*. *Ann. Appl. Biol.* 1995; 127: 463-478.
- Kong G.A., Simpson G.B., Kochman J.K., Brown J.F. Components of quantitative resistance in sunflower to *Alternaria helianthi*. *Ann. appl. Biol.* 1997; 130: 439-451.
- Simmons E.G. *Alternaria* an Identification Manual. *CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrech, Netherlands*. 2007; str. 667.
- Talboys P.W. A culture medium aiding identification of *V.albo-atrum* and *V. dahliae*. *Plant Pathology*. 1960; 9: 57-58.

GOROLKA IN SAVINJA, DVE NOVI SLOVENSKI SORTI PŠENICEAnton TAJNŠEK²⁰, Lena TAJNŠEK²¹

UDK / UDC 633.11:631.527:664.6(497.4)(045)

strokovni članek / professional article

prispelo / received: 01. 11. 2011

sprejeto / accepted: 25. 11. 2011

Izvleček

V članku so podane agronomske in morfološke značilnosti Gorolke in Savinja, dveh novih slovenskih potrjenih sort pšenice, vpisanih v Sortno listo Evropske unije. Savinja je zelo rodovitna sorta, Gorolka pa je primerna tudi za ekološko pridelavo. Obe sorti imata odlične pekarske lastnosti, poleg tega pa sta odporni tudi na glivične bolezni in sta tolerantni na vročinski stres. V eni od svetovnih kolekcij pšeničnih sort iz 21 držav, ki so jo testirali na Državni univerzi v Kansasu na odpornost na vročinski stres, je pokazala največjo odpornost sorta Gorolka. Ta sorta ima največji volumen kruha med vsemi slovenskimi sortami pšenice. V rastni sezoni 2011/12 sta bili obe sorti prvič posejani v semenski proizvodnji.

Ključne besede: sorta, pšenica, *Triticum aestivum* L., pekarska kakovost, slovenske sorte pšenice, Gorolka, Savinja, vročinski stres, volumen kruha

**GOROLKA AND SAVINJA, TWO NEW SLOVENIAN
WHEAT CULTIVARS****Abstract**

Agronomic characteristics of Gorolka and Savinja, the two new Slovenian acknowledged wheat cultivars, inscribed in the European list of varieties, are given in this article. Savinja is high productive cultivar. Gorolka is suitable for organic farming, also. The both cultivars have good bread making characteristics, on the other side they are resistant to fungi diseases and tolerant to heat stress. In one collection of world wheat cultivars, tested at Kansas State University, the highest heat stability was found at cultivar Gorolka. This cultivar has the greatest bread

²⁰ Prof. dr., Seljakovo naselje 37, 4000 Kranj, e-pošta: tone.tajnsek@bf.uni-lj.si

²¹ Univ. dipl. inž. živ. tehnol., Bodešče 10, 4120 Bled, e-pošta: lena.tajnsek@gmail.com

volume of all Slovenian wheat cultivars. In the growing season 2011/12 both cultivars were sown by the farmers at the first time for a large practical use.

Key words: cultivar, wheat, baking quality, Slovenian wheat cultivars, cv. Gorolka, cv. Savinja, heat stress, bread volume

1 UVOD

Jeseni 2010 sta na Centralnem inštitutu za supervizijo in testiranje v kmetijstvu (VKZUZ) iz Brna, ki je v okviru UPOV (Union international pour la protection des obtentions végétales) v Ženevi ena izmed akreditiranih inštitucij za pridobitev certifikata RIN (razpoznavnost, izenačenost in nespremenljivost sorte) za pšenico, pridobili vpis v evropsko in slovensko sortno listo dve slovenski sorti pšenice, Gorolka in Savinja (FURS, 2010). Uporabno vrednost obeh sort za pridelavo je predhodno potrdila Podkomisija za potrjevanje žit v okviru FURS; poskuse pa je opravil Kmetijski inštitut Slovenije na lokacijah v Rakičanu in na Jablah (1999-2001). Obe sorti sta bili v kmetijski proizvodnji za semensko proizvodnjo prvič posejani jeseni 2011. Ti sorti sta po Marinki (žlahtnitelj Štefan Erjavec), ki je bila potrjena že leta 1968, in sorti Reska (žlahtnitelj Anton Tajnšek, 1996), šele tretja in četrta sorta pšenice, ki so bile vzgojene in potrjene v Sloveniji po drugi svetovni vojni.

Povod za žlahtnjenje pšeničnih sort, ki bi bile primerne za slovenske razmere, je kljub majhnemu obsegu poljedelske proizvodnje v naši državi prvi avtor tega prispevka našel v hitro spreminjajočih se političnih in gospodarskih razmerah v Sloveniji in SFRJ po Titovi smrti leta 1980. Žlahtnitelj bodočih slovenskih sort žita je takrat postal prepričan, da SFRJ ne bo preživela, in da se bo Slovenija v doglednem času osamosvojila. Ob tem je bilo povsem realno pomisliti tudi na nevarnost, da bi pri tem lahko naletela na nerazumevanje drugih držav oziroma mednarodnih političnih in gospodarskih centrov odločanja. Poleg ostalih težav bi bila lahko med drugim otežena prehranska varnost prebivalstva Republike Slovenije in v tem okviru predvsem zadostna pridelava rodovitnih in kakovostnih sort pšenice. V tedanjih razmerah smo namreč v Sloveniji sejali skoraj izključno le srbske in hrvaške sorte pšenice, katerih osnovno (bazično) seme je bilo v pristojnosti srbskih in hrvaških lastnikov sort. Če nas svet ne bi priznal, bi lahko Slovenija dve do tri leta po osamosvojitvi ostala brez kakovostnega bazičnega pšeničnega semena. V takšnih političnih in gospodarskih razmerah smo se odločili za žlahtnjenje domačih, slovenskih sort pšenice. Med drugim je tej zamisli dajalo legitimnost dovolj uspešno dodiplomsko in podiplomsko žlahtniteljsko izpopolnjevanje prvega avtorja tega prispevka na priznanih selekcijskih ustanovah »Nordsaat« (1964) v Nemčiji in Svalöf (Sveriges Utsadesförening Svalöv) (v letih

1966 in 1968) na Švedskem. Ker pa je postala Slovenija kmalu po neodvisnosti mednarodno priznana, so prodrle na naš pšenični semenski trg tudi tuje korporacije s svojimi sortami pšenice.

2 LASTNOSTI SORT GOROLKA IN SAVINJA

2.1 Gorolka

Sorto Gorolka smo vzgajali iz ene odbranke, ki smo jo dobili s križanjem linije WW 1963 (Nordsaat) in izbrane linije križancev jugoslovanskih sort Marinka x Mačvanka (WW 1963 x (Marinka x Mačvanka)). Za razliko od sort Mačvanka in Marinka, ki imata visoko absolutno maso (AM), nad 46 g, je značilnost sorte Gorolka sorazmerno drobno, vendar dobro nabito, kleno zrnje (AM 42-44 g) z odličnimi pekarskimi lastnostmi (slika 1). Bil (steblo) Gorolke je vitko in elastično; slednje ji omogoča dobro odpornost proti poleganju, čeprav je sorazmerno visoke rasti (90-105 cm). Ko sorta zori, se klas in zgornji stebelni internodij (pedunkel) delno povesita (pri vseh rastlinah v posevku v isto smer), tako da daje videz ne ravno visoke sorte. Klas sorte Gorolka je po tipu bela golica, s kratkimi 1-2 cm dolgimi resami na ogrinjalni plevi. Zrnje je rdeče, ovalne oblike. Po nemški kvalifikaciji kakovosti pšenice je Gorolka izboljševalka, saj spada v A do E kakovostni razred (Anon. 2008), odvisno od vremenskih razmer v obdobju zorenja.

V primerjavi z drugimi rodovitnimi sortami zasede na srednje rodovitnem rastišču in pri zmernem gnojenju z dušikom (100-150 kg/ha N) rang med prvimi petimi najrodovitnejšimi sortami (KIS, 2002). Ob tem pa spada med najbolj kakovostne po kriterijih vsebnosti beljakovin (13–15 %), sedimentacijski vrednosti (45-65), številu padanja (Hagberg falling number 220-300) in hektolitrski masi (78-85) (Tajnšek, 2008)). Zaradi omenjenih odličnih pekarskih lastnosti, zaradi srednje visokega do visokega stebela in ker je odporna proti pepelovski (*Erysiphe graminis*), nožnim boleznim (*Fusarium sp.*), rjavenju listov (*Septoria tritici*) in rjavenju plev (*Septoria nodorum*) je sorta Gorolka zelo primerna tudi za ekološko pridelavo. V ekstenzivni pridelavi se kakovost zrnja, v pridelavi z drugimi sortami, le malo zmanjša. Manjša dostopnost dušika v ekološki pridelavi se pri tej sorti le v manjši meri odrazi v zmanjšanju beljakovin, in drugih, za pekarske namene pomembnih lastnosti zrnja (farinogram, ekstenziogram, sedimentacijska vrednost, število padanja), lahko pa pomanjkanje dušika v tleh vpliva na zmanjšanje pridelka. Vendar pa predstavlja v ekološki pridelavi pšenice večji problem slaba kakovost zrnja kot višina pridelka.

Sorta Gorolka je ena od sort, ki nudijo odgovor na izzive klimatskih sprememb, saj je odporna na dolgotrajni temperaturni stres. V eni izmed svetovnih kolekcij

pšeničnih sort, po možnosti čim bolj odpornih na sušo, iz 21 držav iz vsega sveta (Slovenije, Bolgarije, Grčije, Turčije, Gruzije, Jemna, Armenije, Egipta, Indije, Etiopije, Avstralije, Afganistana,...), so na Državni univerzi v Kansasu le-te testirali na odpornost na toplotni stres pri pogojih: 10 dni pri fotoperiodi dan 14 ur, noč 10 ur in temperaturi 39/34°C (dan/noč) in dodatno še 6 dni pri temperaturi 42/39°C (dan/noč). V preizkusu je bila sorta Gorolka ena izmed dveh sort, ki sta bili na ta toplotni stres imuni (Ristic in sod., 2008). Avtorja prispevka zato menita, da je ta sorta primerna zlasti za jugovzhodno in vzhodno Slovenijo. Sorta Gorolka prenese tudi pozno setev (sredina oktobra do sredine novembra), na hektar se poseje 200-220 kg semena ((380-400)/m² kalivih semen), sejemo pa jo na ne preplitvih tleh. Po opažanjih avtorjev dozori Gorolka v vzhodni Sloveniji v začetku druge dekade julija, v osrednji Sloveniji pa 3-4 dni kasneje.



Slika 1: Pekarski poskus s sorto Gorolka v obdobju potrjevanja (2001). Levo je kruh, pečen iz moke pšenice, požete v Rakičanu, desno iz moke pšenice, požete v Jablah.

Figure 1: Baking test with cv. Gorolka in the time of confirming (2001). Left: bread from flour from wheat harvested at Rakičan near Murska Sobota, right: bread from flour from wheat harvested at Jable ner Ljubljana.

Preglednica 1: Opis sort Gorolka in Savinja (UKZUZ Brno, 2009)

Table 1: Morphological characteristics of cv. Gorolka and cv. Savinja (UKZUZ Brno, 2009)

Morfološki znak	Gorolka	Savinja
Barva koleoptile	odsotna do zelo slaba	slaba
Habitus razraščanja	poševni do prostatum	poševni
Frekvenca rastlin z zavitim zastavičarjem	nizka do srednja	zelo nizka do nizka
Zgodnost cvetenja	srednja	rana
Dlakavost nožnice zastavičarja	srednja	zelo močna
Dlakavost listne ploskve zastavičarja	srednja do močna	močna
Dlakavost klasa	srednja	srednja
Dlakavost prvega internodija pod klasom	srednja	močna do zelo močna
Dolžina rastline, klasa, res	srednja do dolga	kratka do srednja
Prerez stebela na sredini internodija pod klasom	srednje	tanko
Izgled klasa v profilu	koničast	koničast
Zbitost klasa	srednja	srednja
Dolžina klasa	srednji do dolg	srednji do dolg
Prisotnost res na ogrinjalni in krovni plevi	prisotne	prisotne
Dolžina res na vrhu klasa	kratke	zelo kratke do kratke
Barva klasa	bela	bela
Dlakavost vrhnjega internodija na klasu	slaba do srednja	močna
Ogrinjalna pleva: širina rame	srednja	srednja do široka
Ogrinjalna pleva: dvignjenost rame	ravna do povešena	ravna
Ogrinjalna pleva: dolžina zobčka	kratka	kratka
Ogrinjalna pleva: oblika zobčka	zmerno ukrivljen	zmerno ukrivljen
Zrno: barva	rdeča	rdeča
Zrno: obarvanje s fenolom	temno	temno

2.2 Lastnosti sorte Savinja

Sorto Savinja smo vzgojili iz ene od linij, ki so nastale s križanjem sorte Balkan in nemške sorte Herzog (Balkan x Herzog). Ima visoko hektolitrsko maso (45-48 g) in je predvsem v predalpskih podnebnih razmerah rodovitna sorta pri zmerno visokih odmerkih dušika ((Tajnšek in Čergan 2010)). Sejemo jo od začetka oktobra do začetka novembra, in sicer z gostoto 400-420/m² kalivih semen (210-240 kg/ha). Je odporna proti pepelovki (*Erysiphe graminis*) in fuzariozam (*Fusarium sp.*). Je srednje do visoke rasti, vendar je odporna proti poleganju ob gnojenju 130-160 kg/ha N. Kot je razvidno iz preglednice 1, ima srednje do dolg klas, s po 20-25 klaski, po tipu je bela golica. Zrno je izrazito eliptično, podolgovato, podobno kot pri rižu je na vrhu in na bazi zrna konično.

V ugodnih zimskih in spomladanskih razmerah sorta Savinja močno razrašča (2-6 stranskih poganjkov), če ni pregosto posejana. Zato je optimalno, če prezimi 280-360 rastlin/m². Savinja je odporna proti zimski golomrazici kot tudi na dolgotrajen zimski mráz. Glede na pekarsko kakovost je tipična izboljševalka (A razred) do odlična krušna sorta (B razred). Za 48 sort, ki jih je imel Kmetijski center Jable v makroposkusu v letu 2010/11, je analizo njihovih pekarskih lastnosti opravila pooblaščená agencija (Bureau Veritas d.o.o., Ljubljana, 2011). Med njimi je bila tudi sorta Savinja. Ta je imela število padanja 228, vsebnost beljakovin 14,7 % in sedimentacijsko vrednost 56. S takimi parametri je bila Savinja po kakovosti pridelka izrazito pred vsemi ostalimi 47-timi sortami v poskusu. Od ostalih sort je bila po vsebnosti beljakovin na drugem mestu Žitarka (12,3 %), po sedimentacijski vrednosti pa Lokullus (33).

Pooblaščen razmnoževalec obeh sort je Kmetijski center Jable. Z razmnoževanjem semena obeh sort je pričel v rastni sezoni 2011/12.

3 ZAKLJUČEK

V članku sta opisani sorti pšenice Gorolka in Savinja, ki sta nastali izključno z žlahtniteljskim delom domačih, slovenskih žlahtniteljev. Podan je seznam agronomskih in morfoloških lastnosti obeh sort.

Gorolka je srednje visoka do visoka golica z odličnimi pekarskimi lastnostmi kruha, primerna tudi kot izboljševalka in za ekološko pridelavo. Je odporna proti toplotnem stresu in zato primerna za pridelavo v toplejših območjih. Odporna je proti fuzariozam, pepelovki, rjavenju plev in listov. Zrnje je rdeče, z absolutno maso 42-44 g. S 5 % fenola se obarva temno. Seje se 200-220 kg/ha semena. V

osrednji in vzhodni Sloveniji je, če vreme omogoča, primerna tudi za setev v novembru.

Savinja je srednje visoka rodovitna golica, z nadpovprečnimi pekarskimi lastnostmi zrnja. Je odporna proti poleganju in glivičnim boleznim na klasu, bili in koreninah. V srednje intenzivni pridelavi spada zlasti v osrednji Sloveniji med najrodovitnejše sorte. Zrnje je rdeče, z absolutno maso 45-48 g. S 5 % fenolno vodno raztopino se obarva temno. Na hektar sejemo 210-240 kg semena.

4 VIRI

- FURS. Leto 11, 43. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, 2010; 12.
- KIS. Rezultati sortnih poskusov. 2002: 4 s.
- Bundessorteamt: Beschreibende Sortenliste. 2008; 107.
- Bureau Veritas Ljubljana d.o.o. Ljubljana, 2011. Jable, ozimna pšenica, analiza: 2 s.
- Ristic Z., Bukovnik U., Vara Prasad P.V., West M.A. Model for Prediction of Heat Stability of Photosynthetic Membranes. *Crop Science*. 2008; 48: 1513-1522.
- Tajnšek A. Biotehniška fakulteta. Analiza pekarskih lastnosti nekaterih sort pšenice v obdobju 2006-2008. osebni podatki, 6 s.
- Tajnšek A., Čergan Z. Langzeitwirkung (1993-2009) differenzierter organischer und N-min-Düngung auf den Ertrag und Wirtschaftlichkeit der Feldfrüchte an zwei Standorten. Kurzfassungen der Wintertagung IOSDV. Rauschholzhäuser, 7.- 9. marec 2010; 2010: 27.
- UKZUZ. Variety description. Brno, Češka, 2009: 10 s.

TRŽNI POTENCIALI ZA PRODAJO SLIV IN ČEŠPELJ V SLOVENIJI

Martin PAVLOVIČ²², Igor ZEMLJIČ²³, Viljem PAVLOVIČ²⁴

UDC / UDK 634.22:631.1:339.13(045)
izvirni znanstveni članek / original scientific article
prispelo / received: 07. 11. 2011
sprejeto / accepted: 29. 11. 2011

Izvleček

Rezultati empirične raziskave tržnih potencialov prodaje sliv v Sloveniji predstavljajo prispevek na področju nacionalne oskrbe s sadjem. V ta namen sta bili v letih 2005 in 2006 opravljene dve anketi. Prva, s 156 večjimi trgovskimi in živilskopredelovalnimi podjetji, ki se ukvarjajo z uvozom sliv in češpelj, z njihovo prodajo na slovenskem trgu, predelavo v živilskopredelovalni industriji in z uporabo za konditorske namene. V drugi anketi pa je reprezentativno sodelovalo 400 naključnih kupcev iz vse Slovenije. Anketna vprašanja se nanašajo na sklope informacij o izvoru uvoženih sliv in češpelj v RS, o oceni pomembnih lastnosti za njihov nakup, o gibanju cen, o kakovosti, o pripravljenosti za nakup domačega pridelka in o konzumu. Del rezultatov smo statistično analizirali z metodo hi-kvadrat in grafično predstavili. Rezultati lahko služijo sadjarjem pri njihovih poslovnih odločitvah o vrsti in obsegu pridelave.

Ključne besede: slive, tržna analiza, anketna raziskava, Slovenija

MARKET POTENTIALS FOR SELLING PLUMS AND PRUNES IN SLOVENIA

Abstract

For this research into the study of the market for plums, various data regarding the production and sales of plums were analysed and discussed. We carried out two surveys among plum buyers, sellers and the food-processing industry. In the years

²² Doc. dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, e-pošta: martin.pavlovic@ihps.si

²³ Mag., Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Univerze v Mariboru, Pivola 10, 2311 Hoče, e-pošta: igor.zemljic@mobitel.si

²⁴ Dr., prav tam, e-pošta: viljem.pavlovic@guest.arnes.si

2005 and 2006, we surveyed 156 food-sales and food-processing companies. In parallel, we interviewed 400 randomly-chosen individuals all over Slovenia. We grouped these interviewees according to their gender, age and education. They were interviewed about the provenience of plums, the importance of their attributes, prices, quality, buying of domestic products and plum consumption. A part of the results was analysed with the Chi-square method and presented graphically. Plum producers can use the results to help them make and further support their business decisions.

Key words: plums, market analysis, questionnaire survey, Slovenia

1 UVOD

Sliva je listopadna drevesna sadna vrsta s povprečno življenjsko dobo 35 let. Raste predvsem na območjih severne geografske širine, kjer uspeva že preko 2600 let. Plodovi vsebujejo vitamine A, B₂ in C, njihova kalorična vrednost pa je skromna (Mišič, 1979). Sorte sliv delimo na evropske in kitajsko-japonske. Ta klasifikacija temelji na izvoru starševskih rastlin, ki so jih uporabili v križanjih za pridobivanje novih sort (Ramming in Cocin, 1990). Glede na čas zorenja ločimo slive in češplje, ki pa jih v raziskavi nismo ločeno obravnavali. Med slive uvrščamo zgodnje sorte, ki zorijo pred 15. avgustom. Imajo debelejše, okroglaste plodove, s kožico različnih barv. Koščica se večinoma ne loči od mesa. Meso ima majhno vsebnost sladkorja in je po okusu vodeno. Uporabljamo jih sveže, saj so manj primerne za sušenje ali predelavo. Češplje so pozno zoreče - od srede avgusta naprej. Plodovi so cepke, imajo čvrsto sladko in sočno meso, ki se loči od kožice. So podolgovatih oblik s kožico modro-violične barve. Zaradi velike vsebnosti sladkorja so primerne za sušenje in predelavo (Adamič, 1990; Senica, 2000).

Obdobje stagnacije nasadov sliv v Sloveniji je nastopilo po drugi svetovni vojni, ko pridelava sliv več ne najde pravega mesta v skupni državi. K poplavi sliv iz nekdanjih skupnih republik Jugoslavije je treba prišteti še virusno bolezen šarka in napad slivovega kaparja ter skoraj popolno pomanjkanje novih in primernih sort (Škerlavaj in sod., 1998). V letu 2004 je Slovenija postala članica EU, kar je tudi na trgu s sadjem prineslo nova izhodišča. Izginila je meja med RS in EU ter s tem prinesla nove priložnosti in nevarnosti na novem skupnem trgu. Hkrati s tem je zrasla nova meja, ki je prinesla nove pogoje za uvoz sadja iz držav nečlanice EU.

Raziskava, ki je potekala v sklopu predbolonjskega magistrskega študija na Fakulteti za kmetijstvo in biosistemske vede Univerze v Mariboru, je bila zaključena v letu 2007 (Zemljič, 2007). Cilj celotne raziskave je bila aplikacija analize trga (Rhodes in James, 1987; Kotler, 1996; Devetak in Vučkovič, 2002) na primeru zanimanja za pridelek sliv v RS tako s strani velikih trgovcev in uporabnikov sliv v živilskopredelovalni industriji, kot tudi samih kupcev. V članku je predstavljen del rezultatov te raziskave.

2 METODE DELA

V letih 2005 in 2006 sta bili opravljene dve anketi. Anketna vprašalnica z vprašanji zaprtega in odprtega tipa sta bila sestavljena iz 20 tematskih vprašanj za podjetja in 17 vprašanj za anketirance.

Prva anketa je vključevala 156 večjih trgovskih in živilskopredelovalnih podjetij, ki se ukvarjajo z uvozom sliv, s prodajo sliv na slovenskem trgu, predelavo sliv v živilskopredelovalni industriji in z uporabo za konditorske namene. Anketiranje podjetij smo izvedli s pomočjo internetnega vprašalnika po predhodni najavi. Izbor pa je temeljil na informacijski bazi podatkov Gospodarske zbornice Slovenije. Pri izvedbi anketiranja se je pojavila napaka izpada, ker je bilo vrnjenih manj izpolnjenih vprašalnikov, kot smo pričakovali.

V drugi anketi pa smo na javnih mestih geografsko reprezentativno zajeli 400 potencialnih kupcev sadja iz vse Slovenije. Potencialne kupce smo anketirali naključno po načelu dostopnosti. Vprašanja so se nanašala na sklope informacij (i) o izvoru uvoženih sliv v RS, (ii) o oceni pomembnih lastnosti za nakup sliv, (iii) o gibanju cen sliv, (iv) o kakovosti sliv, (vi) o pripravljenosti za nakup domačih sliv in (vii) o konzumu sliv. Del rezultatov smo statistično analizirali z metodo hi-kvadrat (Grafen in Hails, 2002).

3 REZULTATI ANKETNE ANALIZE

3.1 Značilnosti vzorca anketiranih

Od poslanih anketnih vprašalnikov za podjetja je bilo v celoti izpolnjenih in rešenih 36. Podjetja smo razdelili v tri skupine glede na povprečni letni nakup sliv: do 1 t (23), od 1 – 5 t (9) in več kot 5 t sliv (4), vendar zaradi premajhnega števila izpolnjenih in vrnjenih vprašalnikov med njimi nismo ugoravljali statističnih razlik. Vseeno pa vzorec vključuje podjetja, ki glede na letni promet upravljajo s

skoraj 70 % celotnega slovenskega tržnega deleža. To nam daje dobro izhodišče za nadaljnjo analizo dobljenih podatkov.

V anketi potrošnikov sliv pa je bilo med 400 sodelujočimi 37 % anketirancev, starih 26 do 45 let. Sledita jim skupini 46 in 55 let (29 %) ter 56 in 70 let (16 %). Najnižji delež predstavljajo anketiranci nad 70 (10 %) in pod 25 let (8 %).

3.2 Značilnosti ponudbe podjetij

3.2.1 Izvor proizvoda

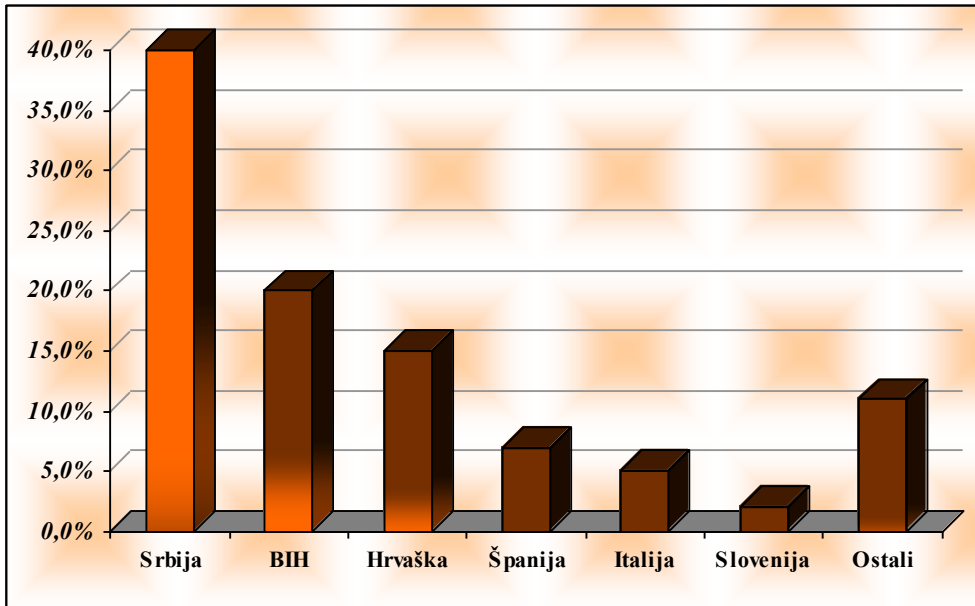
Na podlagi dobljenih podatkov je razvidno, da je 40 % vseh svežih sliv v Sloveniji uvoženih iz Srbije. Če temu dodamo še 20-odstotni delež sliv iz BiH in 15-odstotni delež iz Hrvaške, vidimo, da 75 % vseh sliv v Sloveniji izvira iz nekdanjih republik bivše skupne države. Med ostalimi državami imata pomembno vlogo še Španija s 7 % in Italija s 5 %. Iz ostalih držav skupaj uvozimo še 11 % sliv (slika 1). Po podatkih se na policah anketiranih trgovcev ne nahajajo domače slive. Sodelovanje z domačimi pridelovalci sliv oziroma odkup domačih sliv pa smo opazili v določenih živilskopredelovalnih podjetjih, v katerih slovenske slive predstavljajo tudi 70 % vseh kupljenih sliv, kar pomeni več kot 50 t.

3.2.2 Količina nakupa po mesecih

Slika 2 prikazuje količino kupljenih sliv v letu 2005. Rezultati kažejo, da podjetja 33 % celotnega uvoza sliv opravijo v avgustu, 28,5 % pa v septembru. S 16,5 % sledi julij, nato oktober z 11 % in s simboličnim deležem še junij in november, kjer uvozijo skupaj le 11 % vseh sliv. Podjetja, ki so sodelovala v anketi, naj bi obvladovala 80 % celotnega slovenskega trga. Vidna je zelo velika razlika v količini nakupa po posameznih mesecih. Tako so meseca avgusta uvozili več kot 140 t, meseca novembra pa manj kot 5 t.

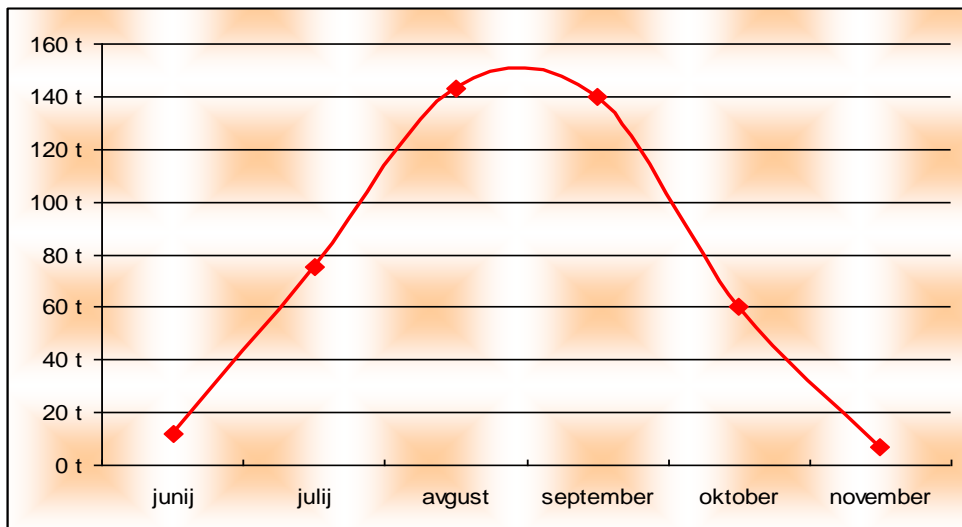
3.2.3 Ocena pomembnih lastnosti za nakup sliv za podjetja

Kot najpomembnejši lastnosti, ki odločata o nakupu sliv v podjetjih, sta najvišjo povprečno oceno od 1 do 5 (4,5) dobila barva in okus. Sledi jima cena s povprečno oceno 4,3. Anketiranci so z oceno 3,6 izenačeno označili poreklo in integrirani način pridelave, medtem ko je velikost naslednja delno pomembna lastnost z oceno 3,5. Najmanj pomembni lastnosti sta embalaža (3,1) in blagovna znamka (2,8).



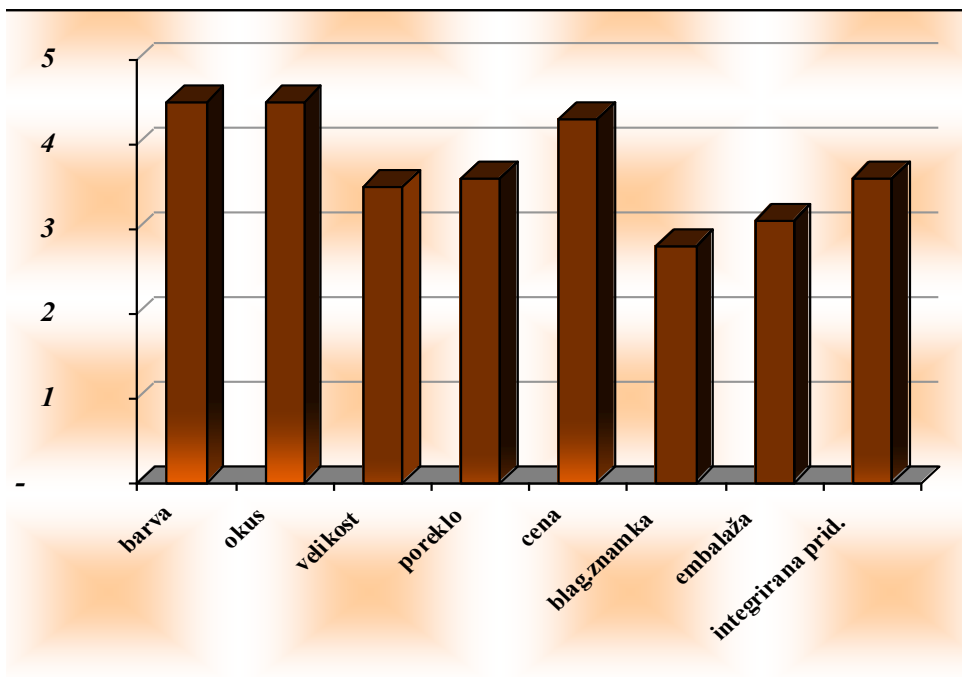
Slika 1: Izvor sliv v ponudbi anketiranih podjetij

Figure 1: Provenience of plums in a supply of companies analysed

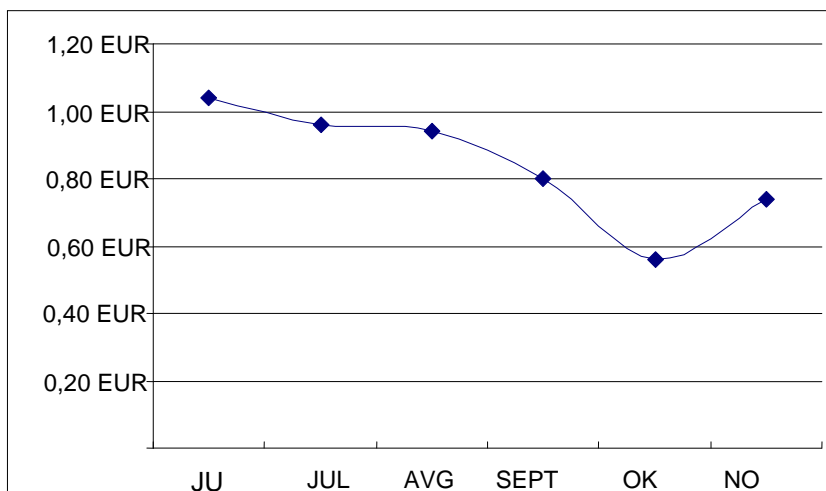


Slika 2: Količina kupljenih sliv po mesecih

Figure 2: Quantity of plums bought per month



Slika 3: Ocena podjetij za najpomembnejše lastnosti sliv
 Figure 3: The most important plum attributes assessed by companies



Slika 4: Gibanje povprečnih cen za slive v anketiranih živilskih podjetjih v letu 2005
 Figure 4: Average price values for plums in the companies analysed in 2005

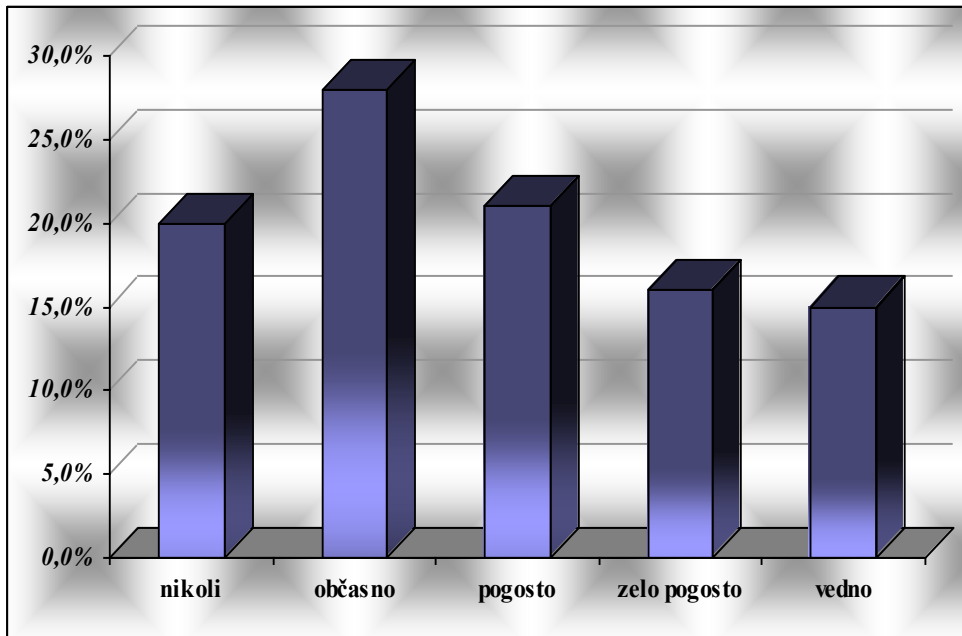
3.2.4 Gibanje cen sliv v sezoni prodaje

Slika 4 prikazuje gibanje povprečnih maloprodajnih cen anketiranih trgovskih podjetij sliv brez vključenega 20-odstotnega DDV-ja v letu 2005. Slive imajo najvišjo ceno na začetku leta, ob povečanju ponudbe in količine cena pada ter se začne ob koncu sezone ponovno dvigati. Cena sliv v sezoni zaniha za 40 % in ne presega cene 1,2 EUR, ne pade pa pod ceno 0,58 EUR.

3.3 Značilnosti povpraševanja anketiranih kupcev

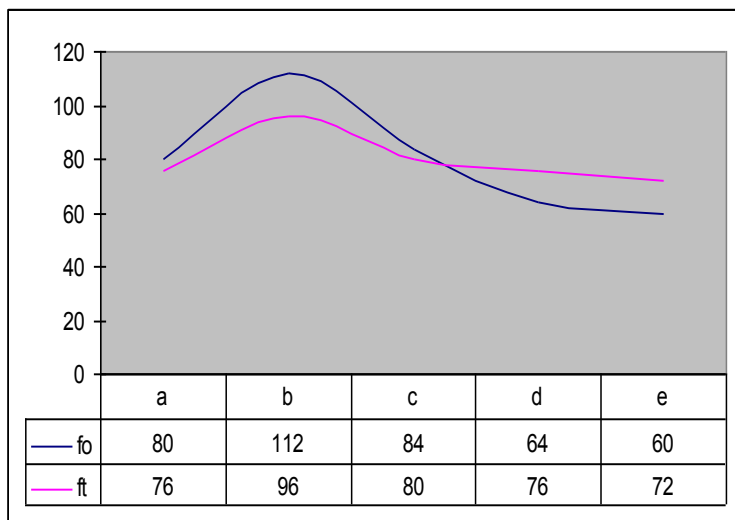
3.3.1 Pozornost na izvor sliv

Največ anketirancev je na poreklo sliv pri nakupu pozornih občasno. Sledijo jim anketiranci, ki so na poreklo pozorni pogosto, s samo odstotkom manj sledijo anketiranci, ki niso pozorni nikoli. Zelo izenačen je tudi delež tistih, ki so na poreklo pozorni zelo pogosto in vedno (slika 5). Postavljeno hipotezo smo testirali s hi-kvadrat testom (slika 6). Analiza je potrdila statistično zanesljivost, da so anketiranci pozorni na izvor sliv (χ^2 pri 5 % = 6.97, $p = 0.137$).



Slika 5: Pozornost anketirancev na izvor sliv

Figure 5: Respondents' attention to the origin of plums



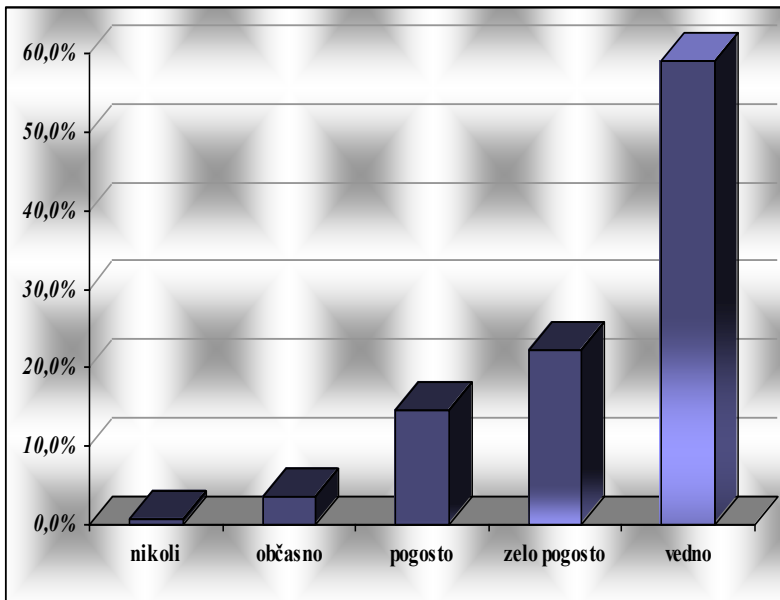
Slika 6: Pričakovana in dejanska frekvenca za parameter pozornosti na izvor sliv

Figure 6: Expected and actual frequency for the parameter of attention to the origin of plums

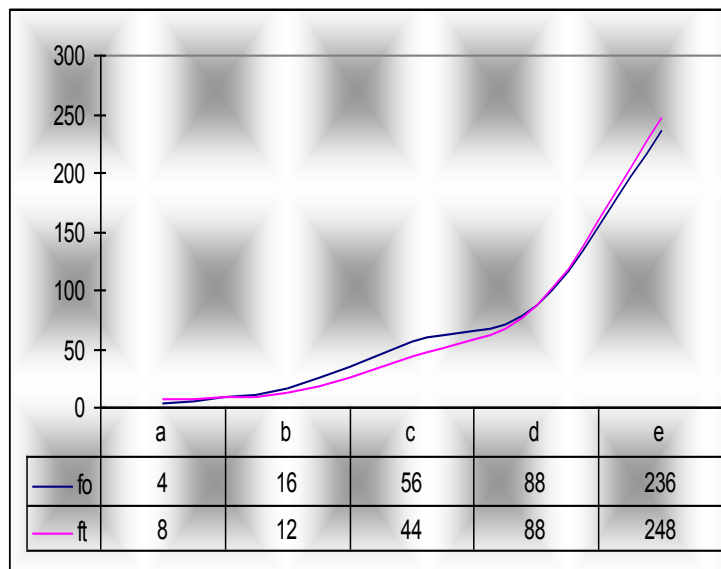
3.3.2 Pripravljenost za nakup domačih sliv

Kar 59 % vseh anketirancev je izrazilo, da bi bili vedno pripravljeni kupovati slive slovenskega porekla, ki bi bile po kakovosti in ceni primerljive z uvoženimi. Sledijo jim anketiranci, ki bi bili primerljive slive pripravljeni kupovati zelo pogosto (22 %), s 14 % pa anketiranci, ki bi to storili pogosto. Skupina, ki bo to bila pripravljena storiti občasno, in skupina, ki tega ne bi storila nikoli, zajemata skupaj 5 % vseh anketirancev (slika 7). Postavljeno hipotezo smo testirali s hi-kvadrat testom. Analiza je potrdila statistično zanesljivost (slika 8), da so anketiranci pozorni na izvor sliv (χ^2 pri 5 % = 7,186, $p = 0,126$).

Anketiranci menijo, da je glavna prednost slovenskih sliv pred uvoženimi njihov boljši okus oziroma aroma (66 %), nato pa z zelo majhnimi razlikami prevladuje možnost ostalo, pod katero so v glavnem navedli večje zaupanje v domače izdelke. Sledijo nižja cena (11%) in lepši videz ter boljša embalaža.



Slika 7: Pripravljenost kupovanja domačih sliv
 Figure 7: Willingness to buy domestic plums



Slika 8: Pričakovana in dejanska frekvenca pripravljenosti za nakup domačih sliv
 Figure 8: Expected and actual frequency for willingness to buy domestic plums

3.3.3 Količina in način konzuma sliv

Poraba sliv med anketiranci je največja v sredini sezone, saj anketiranci največ sliv porabijo v septembru 35 % in samo 5 % manj avgusta. Poraba je tudi zelo izenačena v juliju in oktobru (14 in 15 %) ter juniju in novembru (5 in 3 %), ki sta prvi in zadnji mesec prodaje.

Povprečna letna poraba sliv na družinskega člana, izračunana s pomočjo vsote števila vseh družinskih članov anketirancev in skupne letne porabe sliv vseh družin znaša 2 kg na anketiranca. Iz rezultatov je razvidno, da je 36 % anketirancev opredelilo porabo sliv na gospodinjstvo od 3 do 5 kg. Skoraj popolnoma enak delež imata poraba od 0 do 2 kg in od 6 do 10 kg. Po pričakovanju je najmanjši delež (14 %) anketirancev, pri katerih je poraba sliv večja kot 10 kg na gospodinjstvo. Povprečna velikost družin anketirancev je 3,1 družinskega člana.

Anketiranci polovico sliv porabijo za konzumno uporabo, medtem ko jih kot dodatek jedem porabijo 31 %, za nadaljnjo predelavo pa 19 %.

3.3.4 Kakovost

Povpraševanje je odvisno tudi od kakovosti proizvoda. Pozornost smo namenili velikosti, barvi okusu in trdoti sadežev.

Več kot 65 % anketirancev bi želelo slive velike 31 do 50 mm, s 27 % jim sledijo anketiranci, ki želijo slive v velikostnem razredu 51 do 70 mm. Presenetljiv je podatek, da si kupci ne želijo drobnih sliv, ki so velike pod 30 mm, še manj pa velikih sliv, ki merijo več kot 70 mm.

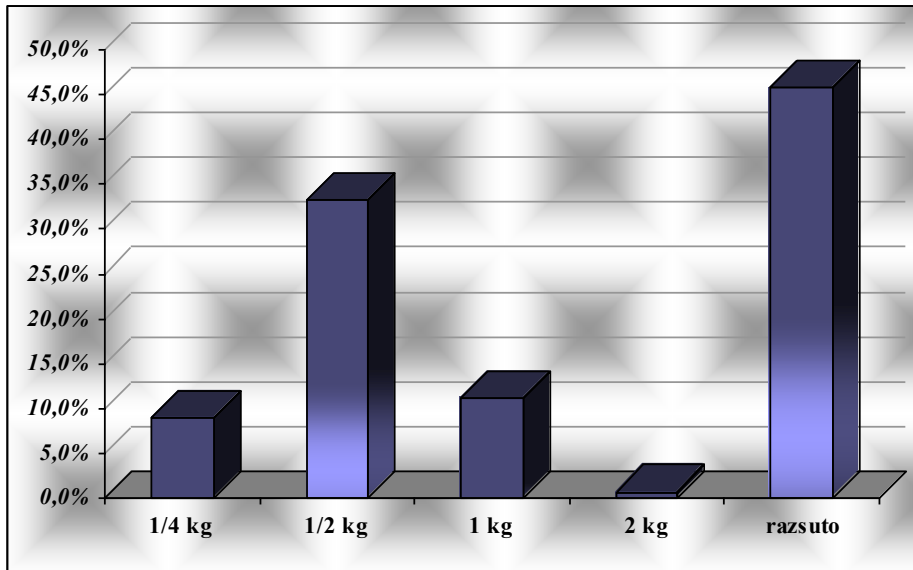
Kot najbolj zeleno barvo sliv so anketiranci v 55 % primerov izbrali temno modro, s 27 % ji sledi temno vijolična barva. Manj priljubljena sta modro-rdeča s 17 % in zeleno-rumena z 1 %.

Anketiranci so si za najbolj zaželen okus v večini izbrali sladko-kisel okus (56 %), sledi jim sladek okus (38 %). Zelo nizek del anketirancev je izbral kisl-sladek okus (5 %) in samo 1 % je izbral kot najbolj zaželenega kisel okus.

Največji delež anketirancev je s 60 % izrazil željo po srednje trdih slivah, s 24 % sledijo anketiranci, ki želijo srednje mehke. Majhen je delež anketirancev, ki želijo trde slive (15 %) in samo 1 % anketirancev je želel mehke slive.

3.3.5 Embalaža

Skoraj polovica anketirancev želi kupovati slive v razsuti obliki, saj si lahko sami določijo želeno količino. S 33-odstotnim deležem sledijo tisti, ki želijo kupovati slive v 0,5-kilogramski embalaži. Najmanj zanimanja so pokazali za 2 kg, medtem ko je bilo za četrt- in polkilogramsko embalažo skoraj enako zanimanje.



Slika 9: Najprimernejša embalaža

Figure 9: The preferred packaging

4 ZAKLJUČEK

V zaključku navajamo zgoščeno najpomembnejše ugotovitve raziskave. Skladno z rezultati ankete predstavljajo slive v strukturi porabe sadja slovenskega potrošnika manj kot 5 % celotnega porabljenega sadja. Vseeno pa obstaja na slovenskem trgu s sadjem pomanjkanje kakovostnih domačih sliv. Zato Slovenijo slive uvaža. Statistika (SURS, 2006) kaže, da Slovenija letno uvozi od 500 do 700 t sliv.

Glede **izvora** sliv lahko zaključimo, da anketirani več kot 60 % vseh sliv pridelajo doma, ali pa jih dobijo v dar od znancev. Dobljeni podatek potrjuje veliko prisotnost tradicije v pridelavi lastnih sliv, hkrati pa potrjuje podatke SURS, ki navajajo, da se v Sloveniji pridelava letno okrog 6000 t sliv, vendar se jih na organiziranih trgih proda le nekaj več kot 100 t. Na podlagi teh podatkov še vedno

ne izvemo, kolikšen del teh sliv se dejansko porabi. Manj kot 25 % vseh sliv kupi v večjih trgovskih centrih ali trgovinah, njihov izvor pa je v večini iz republik nekdanje Jugoslavije.

Ponudbo sortimenta sliv na domačem trgu so anketiranci označili kot sorazmerno slabo, pri čemer je potrebno tudi upoštevati, da je 60 % naključno anketiranih prepoznalo manj kot polovico navedenih sort oziroma sploh ne kupuje sliv.

Da je **poreklo** sliv pomemben dejavnik pri nakupu, so potrdili tako anketiranci kot anketirana podjetja. Anketiranci ne dajejo tujim slivam nobenih prednosti in kar 59 % vseh anketirancev bi bilo pogosto do vedno pripravljeno kupovati domače slive pod pogojem, da bi bile po ceni in kakovosti primerljive z uvoženimi. Anketiranci navajajo kot glavno prednost slovenskih sliv pred uvoženimi boljši okus in zaupanje do domačega pridelka. Torej lastnosti, ki jih je zaradi bližine pridelovalnih površin mogoče doseči in jih je kupcem treba tudi primerno predstaviti kot prednost domačega sadja.

Obe skupini anketirancev sta **ceno** sliv označili kot pomemben, vendar nikakor kot najpomembnejši dejavnik, ki bi odločal o nakupu sliv. Tudi cenovna pozicija sliv je v primerjavi z najkonkurenčnejšim sezonskim sadjem ugodna, saj je sliva v povprečju vedno cenejša od breskve. Velja tudi ocena, da bodo ceno domačih sliv na slovenskem trgu vedno narekemale uvožene slive, saj kupci za domače slive niso pripravljeni plačati več kot za uvožene. To potrjujejo tudi odgovori anketiranih podjetij, ki so prepričana (60 %), da za slovensko slivo ne gre pričakovati višje cene kot za uvoženo.

Letni **konzum** sliv z 2 kg na osebo je skromen v primerjavi s celotno povprečno količino zaužitega sadja na Slovenca, ki znaša blizu 80 kg na leto. Največ sliv se porabi oziroma kupi v mesecih avgustu in septembru (61 %), kar je po svoje tudi logičen rezultat za obe vrsti porabnikov. Tako za tiste, ki slive kupujejo, kot tiste, ki slive pridelujejo ali dobijo. V tem obdobju namreč obrodi večina pri nas posajenih sliv, hkrati pa je v tem obdobju zaznati prvi padec njihove cene, kar gotovo vpliva na nakup.

Glede **rabe** sliv kažejo rezultati, da se polovica vseh sliv (50 %) v gospodinjstvih porabi kot sveže sadje za konzumno uporabo, najmanj pa za nadaljnjo predelavo (19 %). Če podatek povežemo še z izračunano nizko povprečno porabo sliv na anketiranca in s tem, da je zelo malo gospodinjstev, v katerih je poraba več kot 10 kg sliv na gospodinjstvo, lahko sklepamo, da se anketirana populacija ni ukvarjala s predelavo sliv v marmelado, s sušenjem ali z žganjekuho, saj je pri teh procesih poraba sliv bistveno večja.

Barva in okus sliv (kakovost) sta najpomembnejši lastnosti, ki odločata o njihovem nakupu. Anketiranci so v 67 % odgovorih izrazili željo, da si želijo sliv, velikih 31-50 mm, ki bi bile temnomodre barve, sladko-kislega okusa, srednje trde in bi se koščica ločila od mesa slive. Te lastnosti ustrezajo opisom sort, ki jih najdemo pri nas na vrtovih ali na prodajnih policah in izvirajo iz republik nekdanje Jugoslavije (Bistrica, Stanley, Čačanska rodna, Čačanska najboljša). Presenetljivo majhno je bilo zanimanje anketirancev za slive novejših sort, ki dosegajo velikost več kot 70 mm in za kitajsko-japonske slive, ki so rumeno-zelene barve.

Podjetja so ponujala različne velikosti **embalaže** pri prodaji sliv, naključni kupci pa so dali prednost razsuti in polkilogramski embalaži.

5 VIRI

- Adamič F. Sadje in sadjarstvo v Sloveniji. Ljubljana, Kmečki glas. 1990; 272.
- Devetak G., Vukovič G. Marketing izobraževalnih storitev. Moderna organizacija. 2002; 348.
- Grafen A., Hails R. Simplicity and serenity in advanced statistics: Modern Statistics of the Life Sciences. Oxford University Press. 2002; 351.
- Kotler P. Marketing management, Trženjsko upravljanje. Slovenska knjiga, Ljubljana. 1996; 446.
- Mišić P.D. Šljiva. Beograd, Nolit. 1979; 213.
- Radonjič D. Osnove marketinškega informacijskega sistema. Gospodarski vestnik, Ljubljana. 1986; 170.
- Ramming D.W., Cocin V. Plums. V: Gentic resources of temperature fruit and nut crops. Wageningen (The Netherland), International Society for Horticultural Science. 1990; 233-288.
- Rhodes V.J. The Agricultural Marketing System. By John Wiley & Sonc, Inc. 1987; 444.
- Senica M. Pomološke lastnosti nekaterih sort sliv. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo, Ljubljana. 2000; 86.
- Škerlavaj V., Munda A., Pajman A., Paradiž-Šabec M., Urek G., Weilguny H., Zemljič-Urbanič M., Žerjav M. Šarka, Plum pox potyvirus (PPV). Tehnološki list 75/98, Ljubljana, KIS, zloženka. 1998.
- Zemljič I. Sistemska analiza tržnih potencialov prodaje sliv v Sloveniji. Magistrsko delo, Magistrska dela študentov podiplomskega študija Fakultete za kmetijstvo in biosistemske vede Univerze v Mariboru, št. 25. 2007; 148.

NAVADNI RIČEK (*Camelina sativa* (L.) Crantz) KOT ALTERNATIVNA OLJNICA

Robert HRASTAR²⁵, Iztok Jože KOŠIR²⁶

UDC / UDK: 633.85:664.34:612.39(045)
pregledni strokovni članek / review professional article
prispelo / received: 15. 10. 2011
sprejeto / accepted: 27. 11. 2011

Izveček

Navadni riček ali toter je oljnica, ki ima na Koroškem polstoletno tradicijo pridelave in predelave. Pridelava te poljščine je zelo ekonomična zaradi minimalnih vhodnih potreb (majhna potreba po gnojenju z mineralnimi gnojili, rastlina ima zelo malo škodljivcev in bolezni, zato je poraba fitofarmaceutskih sredstev minimalna), kar omogoča pridelavo v ekoloških razmerah. Absolutna masa je od 0,8 do 1,8 g. Seme vsebuje do 40 ut. % olja. Olje z ugodno maščobno kislinsko sestavo, med katerimi prevladuje esencialna omega-3 maščobna kislina (do 40 ut. %), je funkcionalno živilo, primerno za hladno kuhanje ali kot ljudsko zdravilo. Oljna pogača je, zaradi visoke vsebnosti beljakovin, primerna za prehrano živali.

Ključne besede: navadni riček, toter, *Camelina sativa* (L.) Crantz, rastlinska olja, ričkovo olje, linolenska kislina

Camelina sativa (L.) Crantz AS AN ALTERNATIVE OILSEED

Abstract

Camelina sativa has been grown by local farmers in the Koroška region since the middle of the 20th Century. *C. sativa* is characterized as a low-input crop and hence economical to produce. This allows the production to proceed under ecological conditions. The weight of 1000 seeds ranges from 0.8 to 1.8 g. The seeds contain up to 40% (wt.) of oil. Camelina oil contains around 35% (wt.) omega-3 essential fatty acid. Characterized as a functional food, Camelina oil is suitable for cold

²⁵ Dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, e-pošta: robert.hrastar@ihps.si

²⁶ Dr., prav tam, e-pošta: iztok.kosir@ihps.si

cooking or as a folk medicine. Due to its high protein content, oil cake is suitable for consumption by animals as fodder.

Key words: *Camelina sativa* (L.) Crantz, false flax, vegetable oil, camelina oil, linolenic acid

1 UVOD

Camelina sativa (L.) Crantz ali navadni riček je neizkoriščena oljnica iz družine križnic (Brassicaceae). Ljudska imena za to rastlino so: "false flax", "gold of pleasure" ali "leindotter" (Zubr, 1997). V Sloveniji navadni riček imenujejo tudi "toter" (Rode, 2002). Arheološke najdbe v Evropi in Skandinaviji kažejo, da so to rastlino pridelovali ter cenili njeno vrednost že pred dva tisoč leti. Seme navadnega rička so uporabljali kot sestavni del pri pripravi različnih kašnih jedi ter kruha za prehrano ljudi, medtem ko je bila beljakovinsko bogata oljna pogača namenjena za krmo živali (Zubr, 1997). Sledilo je obdobje, ko je bil navadni riček v Evropi označen kot plevel na poljih lanu (od tod ime "false flax"), vendar je bila njegova funkcionalna raba znova obujena v manjšem obsegu v začetku 20. stoletja v severnem delu Evrope in na Balkanu (Zubr, 1997). Pred drugo svetovno vojno in do leta 1950 so ga pridelovali v različnih evropskih državah predvsem kot nadomestek za oljno ogrščico (*Brassica napus* L.). Olje so takrat kot tudi danes uporabljali za kuhanje, kot naravno ljudsko zdravilo in za tehnične namene (Rode, 2002). Zanimanje za to oljnico se je v zadnjih desetih letih močno povečalo v nekaterih državah srednje in severne Evrope (Avstrija, Nemčija, Slovenija, Velika Britanija, Irska, Finska in Danska), v Severni Ameriki (ZDA, Kanada) in v Avstraliji. Glavni razlog je, da je pridelava te poljščine zelo ekonomična zaradi minimalnih vhodnih potreb (majhna potreba po gnojenju z mineralnimi gnojili, rastlina ima zelo malo škodljivcev in bolezni, zaradi česar je poraba fitofarmaceutskih sredstev minimalna). Poleg tega je ričkovno olje zaradi visoke vsebnosti esencialnih maščobnih kislin izdelek z visoko dodano vrednostjo (Zubr, 1997; Zubr, 2010; Pilgermam in sod., 2007; Ghamkhar in sod., 2010).

2 MORFOLOGIJA RASTLINE

Camelina microcarpa in *Camelina sativa* sta pomembni vrsti iz rodu *Camelina*. Vrsta *Camelina sativa* ima dve kmetijsko pomembni podvrsti, in sicer ozimno *Camelina sativa* subsp. *pilosa* in jaro *Camelina sativa* (Plessers in sod., 1962). Obdobje rasti jare oljnice je približno od 90-120 dni. Čas setve jarega rička je konec marca oziroma začetek aprila. Prav zgodnja spomladanska rast omogoča, da rastlina preraste in zaduši večino plevelov. V začetni fazi rasti se razvijeta

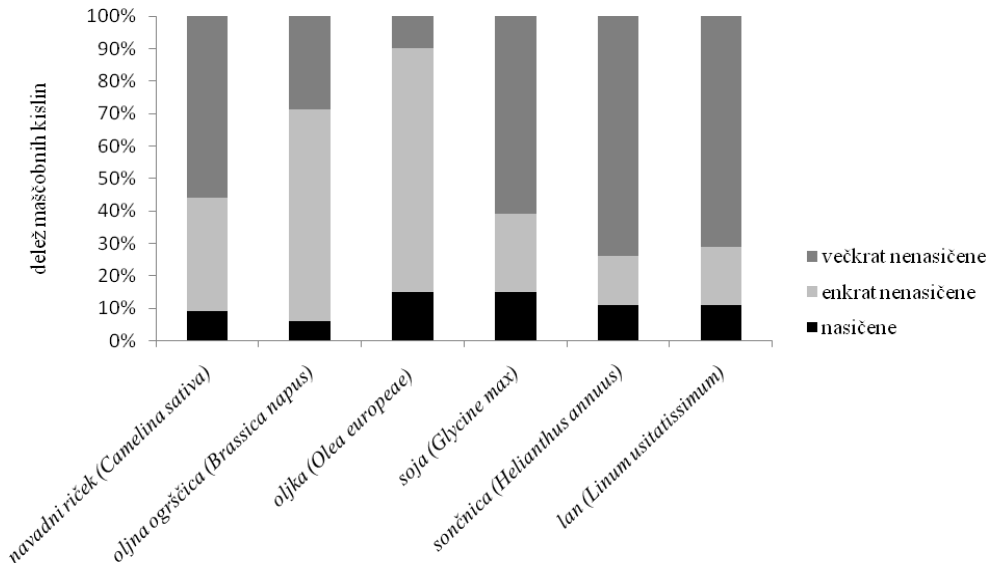
najpomembnejša dela rastline, in sicer stožčast koreninski sistem in listi rozete. Pozneje rozeta postane izhodišče za pokončno steblo s številnimi listi. Rastlina z dlakavim stebлом in gladkimi vejami navadno doseže od 70-100 cm v višino. Listi so dolgi od 5-8 cm, koničaste oblike z gladkimi robovi. Cvet, ki je samoprašen, majhen, blede rumen, s po štirimi venčnimi listi. Plod je lusk, male hruškaste oblike, vsebuje približno 15 semen, ki so majhna (0,7 mm x 1,5 mm), svetlo rumeno rjave barve, ovalne oblike in z dvokapno površino. Ko se barva semena spremeni v temno rjavo ali rdečkasto barvo, to nakazuje, da so semena dozorela. Kljub kratkemu obdobju rasti je lahko pridelek jarega navadnega rička do 2,6 t/ha. Absolutna masa semen je od 0,8 do 1,8 g in je odvisna od sorte in pogojev za rast (Zubr, 1997).

3 RIČKOVO OLJE

Glavni produkt navadnega rička je olje. Drobljenje in toplo stiskanje semen, ki vsebujejo od 30-40 % olja v suhi snovi, je tradicionalen način pridelave tega olja na Koroškem (Rode, 2002). Ričkovo olje je rumeno zelene barve ter ima značilna vonj in okus po križnicah (Przybylski, 2005). Dodana vrednost tega rastlinskega olja temelji na visoki vsebnosti enkrat nenasičenih (35 %) in večkrat nenasičenih (56 %) maščobnih kislin (slika 1).

Olje vsebuje večje deleže oleinske kisline ($C_{18:1n-9}$, 15-20 %), linolne kisline ($C_{18:2n-6}$, 15-20 %), α -linolenske kisline ($C_{18:3n-3}$, 30-40 %), gondojske kisline ($C_{20:1n-9}$, 10-15 %), manjši delež eruka kisline ($C_{22:1n-9}$, okoli 3 %) ter ostale maščobne kisline (Zubr 1997) (preglednica 1). Poleg večinskega deleža $C_{18:3n-3}$ je zelo zanimiv tudi visok delež (okoli 15 %) v naravi redko prisotne $C_{20:1n-9}$. Ričkovo olje ima manj kot 5,0 % $C_{22:1n-9}$, ki je najvišja dovoljena vsebnost $C_{22:1n-9}$ v rastlinskih oljih za prehrano ljudi (Commission Directive..., 1980).

Zaradi potencialno zdravlilnih lastnosti ričkovega olja je to postalo zelo privlačno za prehransko, kozmetično in farmacevtsko industrijo (Karvonen in sod., 2002; Zubr, 2009a; Campbell in sod., 2009). Ričkovo olje so tehnološko uspešno dodajali v živila kot so margarina, solatni preliv ali sladoled, s poudarkom, da ima novi izdelek povečano vsebnost n-3 maščobnih kislin. Prav tako se lahko ričkovo olje uporablja kot sestavina pri kuhanju, vendar naj ne bi bila temperaturna obdelava previsoka, saj lahko pri tem pride do pojava nezaželenega vonja in oksidativnih produktov (Eidhin in O'Beirne, 2010; Zubr, 2009b).



Slika 1: Delež nasičenih, enkrat nenasičenih in večkrat nenasičenih maščobnih kislin v različnih oljih rastlinskega izvora (Zubr, 1997)

Figure 1: Percentage of saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in different vegetable oils (Zubr, 1997)

Hlapne komponente ričkovega olja v večini primerov sestavljajo oksidacijski produkti olja, zato je čiščenje ali rafinacija olja zaželen tehnološki proces pred nadaljnjo uporabo. Deodorizirano olje ima nevtralna vonj in okus ter zmanjšano vsebnost prostih maščobnih kislin in oksidacijskih komponent (Hrastar in sod., 2011a; Hrastar in sod., 2011b).

Ričkovo olje pogosto uporabljajo tudi za neprehramske namene. Olje uporabljajo za proizvodnjo talnih oblog (linolej), tiskarskih barv, lakov ali kitov v kemični industriji predvsem zaradi visokega deleža $C_{18:3n-3}$ (Friedt in sod., 1994). To olje lahko uporabljamo tudi kot surovino pri proizvodnji tenzidov, kozmetičnih dodatkov, biomaziv in biolubrikantov (Jansen in Steffen, 1992) ter kot pogonsko biogorivo (Bernardo in sod., 2003; Pilgeram in sod., 2007).

Tokoferoli so v maščobah topni antioksidanti in so v rastlinah naravno prisotni. Tokoferoli so skupina molekul, katerih glavna značilnost je preprečevanje oksidacije drugih molekul, kot so nenasičene maščobne kisline. Ričkovo olje vsebuje okoli 750 mg celokupnih tokoferolov /kg. Več kot 90 % vseh tokoferolov v ričkovem olju predstavlja γ -tokoferol, α - in δ -tokoferol sta prisotna v manjšini, medtem ko β -tokoferol ni bil določen. Poleg tokoferolov olje vsebuje tudi antioksidativno aktivne polifenole (Abramovič in sod., 2007).

Preglednica 1: Maščobnokislinska sestava različnih rastlinskih olj (ut. %) (^a Zubr, 1997; ^bPutnam in sod., 1993; ^cBešter in sod., 2008)

Table 1: Fatty acid composition of different vegetable oils, (wt. %) (^a Zubr, 1997; ^bPutnam in sod., 1993; ^cBešter in sod., 2008)

maščobna kislina	delež maščobne kisline (ut. %)					
	n. riček (<i>Camelina sativa</i>) ^a	o. ogrščica (<i>Brassica napus</i>) ^b	oljka (<i>Olea europaea</i>) ^c	soja (<i>Glycine max</i>) ^b	sončnica (<i>Helianthus annuus</i>) ^b	lan (<i>Linum usitatissimum</i>) ^b
palmitinska (C _{16:0})	5,6	6,2	12,8	10,4	6,0	5,1
stearinska (C _{18:0})	2,7	0,0	3,2	4,0	3,8	4,6
oleinska (C _{18:1n-9})	16,5	61,3	75,3	27,2	17,4	24,3
linolna (C _{18:2n-6})	16,3	21,5	5,7	45,5	69,3	16,3
linolenska (C _{18:3n-3})	33,7	6,5	0,6	7,2	0,0	45,1
arahidonska (C _{20:0})	1,5	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0
gondojska (C _{20:1n-9})	15,1	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0
eruka (C _{22:1n-9})	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9

4 OLJNA POGAČA

Možnost uporabe oljne pogače za živalsko krmo oziroma kot sekundarno surovino, ki nastane po stiskanju semen, je pomemben dejavnik pri dokončni predelavi semena. Oljna pogača ima poleg ugodne sestave maščobnih kislin tudi visoko vsebnost beljakovin, ogljikovih hidratov, mineralov in vitaminov (Zubr, 2010). V oljni pogači so prisotni tudi glukozinolati (GLZ), ki so biološko aktivni sekundarni metaboliti (Hrastar in sod., v tisku)

5 NAVADNI RIČEK V SLOVENIJI

Slovenski navadni riček ali toter je na Koroškem avtohtona vrsta. Zeven (1998) je opisal avtohtono rastlino kot tisto, ki so jo v določenem prostoru pridelovali dovolj dolgo časa in se je skozi čas uspešno prilagajala na tamkajšnje okoljske značilnosti.

Ekstenzivno in organsko pridelavo jarega navadnega rička na območju Koroške so uspešno ohranili tamkajšnji kmetje (Rode, 2002). Koroška je dežela treh dolin, in sicer Mežiške doline, Dravske doline in Mislinjske doline, in treh gorovij: Pohorja, Karavank in Savinjskih Alp, kar daje regiji pestro naravno raznolikost. Tu je navadni riček od sredine 20. stoletja razvil posebne značilnosti na skromnih tleh, visoki nadmorski višini in subalpskem podnebju. Različne študije (Ghamkhar in sod., 2010; Matthäus in Zubr, 2000; Vollmann in sod., 2005; Zubr in Matthäus, 2002; Vollmann in sod., 2007) so poročale o močnem vplivu okoljskih razmer na kakovostne parametre olja ali semena. Kmetje rastlino pridelujejo na slabše obljudenih površinah oziroma tam, kjer klasične kulture ne bi uspevale. Toplo stiskano olje redno uporabljajo pri pripravi hrane in kot naravno ljudsko zdravilo. Večino olja prodajo na domu, nekaj pa tudi v tamkajšnjih lekarnah. Glede na pomembno vlogo tega rastlinskega olja, ki spremlja tamkajšnje ljudi vsak dan, je bilo do zdaj opravljenih malo raziskav v zvezi z njegovo kakovostjo.

Hrastar in sod. (v tisku) so na desetih različnih lokacijah Koroške določili vsebnost olja in glukoze inolatov v semenu, medtem ko so na olju določili vsebnost prostih maščobnih kislin, peroksidno število, jedno vrednost, vsebnost tokoferolov in maščobnih kislin v treh zaporednih rastnih sezonah. Vsebnost olja v semenu se je gibala od 28,78-40,21 ut. %, medtem ko je jedno število, peroksidno število in vsebnost prostih maščobnih kislin v okviru vrednosti, ki dajejo temu olju širok razpon prehranske uporabe. Ričkovo olje je bilo izredno bogato z esencialno n-3 α -linolensko kislino (od 33,32-37,65 %) in γ -tokoferolom (od 532-798 mg/kg), medtem ko je bila za seme značilna visoka vsebnost glukoze inolatov. Zaradi opažene variabilnosti, predvidevajo, da na posamezni lokaciji, na značilnosti olja in semena avtohtonega navadnega rička vplivajo okoljski dejavniki, medtem ko je za razlike med lokacijami verjetno odgovorna različna genska zasnova, ki je rezultat več kot polstoletne okoljske selekcije.

5 ZAKLJUČEK

Navadni riček je rastlina, ki ima velik potencial, da postane ena izmed oljnic, ki bi krojile podobo kmetijskih polj v prihodnosti. Pridelava rička je skoraj v celoti ekološka, locirana na skromnih pridelovalnih območjih, ekonomsko sprejemljiva in navsezadnje ima njen glavni produkt, olje, visoko prehransko in industrijsko vrednost. Na avtohtonem navadnem ričku s Koroške je potrebno izvesti študijo genetske karakterizacije, žlahtnjenja, načina pridelave in predelave. Oljnico je treba potencialnim pridelovalcem predstaviti v smislu »low input«
rastline in poudariti, da je pridelovanje možno tudi na območjih, kjer klasične kulturne rastline ne bi uspevale. Prav tako je potrebno olje promovirati kot jedilno in zdravilno olje. Pri

tem si je treba pomagati tudi z izkušnjami iz dobrih praks, ki so bile opravljene na istrskem oljčnem olju in štajerskem in prekmurskem bučnem olju.

6 VIRI

- Abramovič H., Butinar B., Nikolič V. Changes occurring in phenolic content, tocopherol composition and oxidative stability of *Camelina sativa* oil during storage. *Food Chemistry*. 2007, 104 (3): 903-909.
- Bernardo A., Howard-Hildige R., O'Connell A., Nichol R., Ryan J., Rice B., Roche E., Leahy J. J. Camelina oil as a fuel for diesel transport engines. *Industrial Crops and Products*. 2003, 17 (3): 191-197.
- Bešter E., Butinar B., Bučar Miklavčič M., Golob T. Chemical changes in extra virgin olive oils from Slovenian Istra after thermal treatment. *Food Chemistry*. 2006, 108 (2): 446-454.
- Campbell C. G., Picotte M. S., Syndergaard S., Filipowicz R., Thorland W. G. Anti-inflammatory effects of *Camelina sativa* oil in postmenopausal women. *FASEB Journal*. 2009, 23, Suppl.: 910.14-910.14.
- Commission Directive 80/891/EEC of 25 July 1980 relating to the Community method of analysis for determining the erucic acid content in oils and fats intended to be used as such for human consumption and foodstuffs containing added oils or fats. 1980. *Official Journal of the European Union*. 23 (L 254): 35-41.
- Eidhin D. N., O'Beirne D. Oxidative stability of camelina oil in salad dressings, mayonnaises and during frying. *International Journal of Food Science and Technology*. 2010, 45 (3): 444-452.
- Friedt W., Büchsenstschütz-Nothdurft A., Bickert C., Schuster A. Züchterische und produktionstechnische Bearbeitung von Lein und Leindotter in Hinblick auf eine Verwendung als nachwachsender Rohstoff. *Vorträge für Pflanzenzüchtung*. 1994, 30: 158-172.
- Ghamkhar K., Croser J., Aryamanesh N., Campbell M., Konkova N., Francis C. Camelina (*Camelina sativa* (L.) Crantz) as an alternative oilseed: Molecular and ecogeographic analyses. *Genome*. 2010, 53 (7): 558-567.
- Hrastar R., Cheong L. Z., Xu X., Košir, I. J. Camelina sativa oil deodorization: balance between free fatty acids and color reduction and isomerized byproducts formation. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 2011a, 88 (4): 581-588.
- Hrastar R., Cheong L. Z., Xu X., Jacobsen C., Nielsen N. S., Leth Miller R., Košir I. J. Deodorization optimization of *Camelina sativa* oil: oxidative and sensory studies. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2011b, 113 (4): 513-521.
- Hrastar R., Abramovič H., Košir I. J. *In situ* quality characterization of *Camelina sativa* landrace from Koroška, Slovenia. *European Journal of Lipid Science and Technology*. V tisku, doi:10.1002/ejlt.201100003.
- Jansen H. D., Steffen M. C. Abpressen von Öl aus Nachwachsenden Rohstoffen. *Mühle & Mischfuttertechnik*. 1992, 129 (17): 211-214.

- Karvonen H. M., Aro A., Tapola N. S., Salminen I., Uusitupa M. I., Sarkkinen E. S. Effect of alpha-linolenic acid-rich *Camelina sativa* oil on serum fatty acid composition and serum lipids in hypercholesterolemic subjects. *Metabolism*. 2002, 51 (10): 1253-1260.
- Matthäus B., Zubr J. Variability of specific components in *Camelina sativa* oilseed cakes. *Industrial Crops and Products*. 2000, 12 (1): 9-18.
- Pilgeram, A. L., Sands D. C, Boss D., Dale N., Wichman D., Lamb P., Lu C., Barrows R., Kirkpatrick M., Thompson B., Johnson D. L. 2007. *Camelina sativa*, a Montana omega-3 and fuel crop. V: *Issues in new crops and new uses*. Janick J., Whipkey A. (eds.). Alexandria, ASHS Press: 129-131.
- Plessers A. G., McGregor W. G., Carson R. B., Nakonesshny W. Species trials with oilseed plants: II. *Camelina*. *Canadian Journal of Plant Science*. 1961, 42: 452-459.
- Przybylski R. 2005. Flax oil and high linolenic oils. V: *Bailey's industrial oil and fat products*. Vol. 2. 6th ed. Shahidi F. (ed.). New York, Wiley: 281-301.
- Putnam D. H., Budin J. T., Field L. A., Breene. W. M. 1993. *Camelina*: A promising low-input oilseed. V: *New crops*. Janick J., Simon J. E. (eds.). New York, Wiley: 314-322
- Rode J. Study of autochthon *Camelina sativa* (L.) Crantz in Slovenia. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*. 2002, 9 (4): 313-318.
- Vollmann J., Moritz T., Kargl C., Baumgartner S., Wagentristl H. Agronomic evaluation of camelina genotypes selected for seed quality characteristics. *Industrial Crops and Products*. 2007, 26 (3): 270-277.
- Vollmann J., Grausgruber H., Stift G., Dryzhyruk V., Lelley T. Genetic diversity in camelina germplasm as revealed by seed quality characteristics and RAPD polymorphism. *Plant Breeding*. 2005, 124 (5): 446-453.
- Zeven A. C. Landraces: A review of definitions and classifications. *Euphytica*. 1998, 104 (2): 127-139.
- Zubr J. Oil-seed crop: *Camelina sativa*. *Industrial Crops and Products*. 1997, 6 (2): 113-119.
- Zubr J. Camelina oil in human nutrition. *Agro Food Industry Hi-Tech*. 2009a, 20 (4): 22-28.
- Zubr J. Unique dietary oil from *Camelina sativa* seed. *Agro Food Industry Hi-Tech*. 2009b, 20 (2): 42-46.
- Zubr J. Carbohydrates, vitamins and minerals of *Camelina sativa* seed. *Nutrition and Food Science*. 2010, 40 (5): 523-531.
- Zubr J., Matthäus B. Effects of growth conditions on fatty acids and tocopherols in *Camelina sativa* oil. *Industrial Crops and Products*. 2002, 15 (2): 155-162.