

PRAKTIČEN VIDIK AEROBILOŠKIH MERITEV IZBRUHOV ASKOSPOR JABLANOVEGA ŠKRLUPA (*Venturia inaequalis* [Cooke] Wint.)

BAJEC Domen¹, PETERLIN Andreja¹, LESKOVŠEK Lucija², RODIČ Karmen¹

¹ KGZS – Zavod NM, Služba za varstvo rastlin, Šmihelska c. 14, 8000 Novo mesto

² Pongrac 83, 3302 Griže

Primarne okužbe jablanovega škrlupa spremljamo z različnimi postopki, med katerimi so tudi metode za spremljanje sproščene inokuluma askospor v ozračje. Gliva *Venturia inaequalis* v zimskem času na odpadnem listju jablane oblikuje spolna plodišča - pseudotecije, v katerih se oblikujejo askusi z askosporami. Izbruhi askospor se začnejo ob ugodnih okoljskih razmerah z zadostno vlago in temperaturo, običajno tik pred začetkom vegetacijskega obdobja jablane. Kvalitativne metode temeljijo na primerjavi stanja. Izvajamo jih v nasadu na pripravljenem nastavku okuženega odpadlega listja bodisi z vazelinskimi objektimi stekelci, bodisi Hirst-ovim tipom lovilca spor. V nastavek med meritvami ne posegamo. Jakost posameznega izbruha primerjamo s predhodnimi meritvami. Količina inokuluma askospor začne ob koncu meseca maja praviloma upadati in se dokončno sprosti do druge dekade junija. Oba postopka po tej metodi sta časovno zamudna in omogočata napake. Najpogosteje prihaja do zamenjav pri vizualnem prepoznavanju askospor *Venturia inaequalis*. Le tem so zelo podobne npr. spore rodu *Alternaria* z eno septo, ki so pogostejše ob zaključevanju primarnih okužb z jablanovim škrlupom, saj se na odpadnem listju razvije množica drugih saprofitnih gliv. Pogosta je tudi neprepoznavnost askospor *Venturia inaequalis* zaradi deformacije ob izsuševanju ali tvorbi kličnega mešička. Meritve po kvantitativni metodi lahko izvajamo s ciklonskim povzročevalnikom, ki omogoča dejansko meritev količine delcev v volumnu zraka v določeni časovni enoti. Zajem delcev v kivetu omogoča tudi nadaljnje molekularno določanje. Ta metoda je zaradi stroškov in tehničnih ovir lovilne naprave še vedno manj praktična.

Ključne besede: jablanov škrlup, *Venturia inaequalis*, aerobiološke meritve, askospore, Hirst-ov povzročevalnik, vazelinska objektima stekelca, ciklonski povzročevalnik,

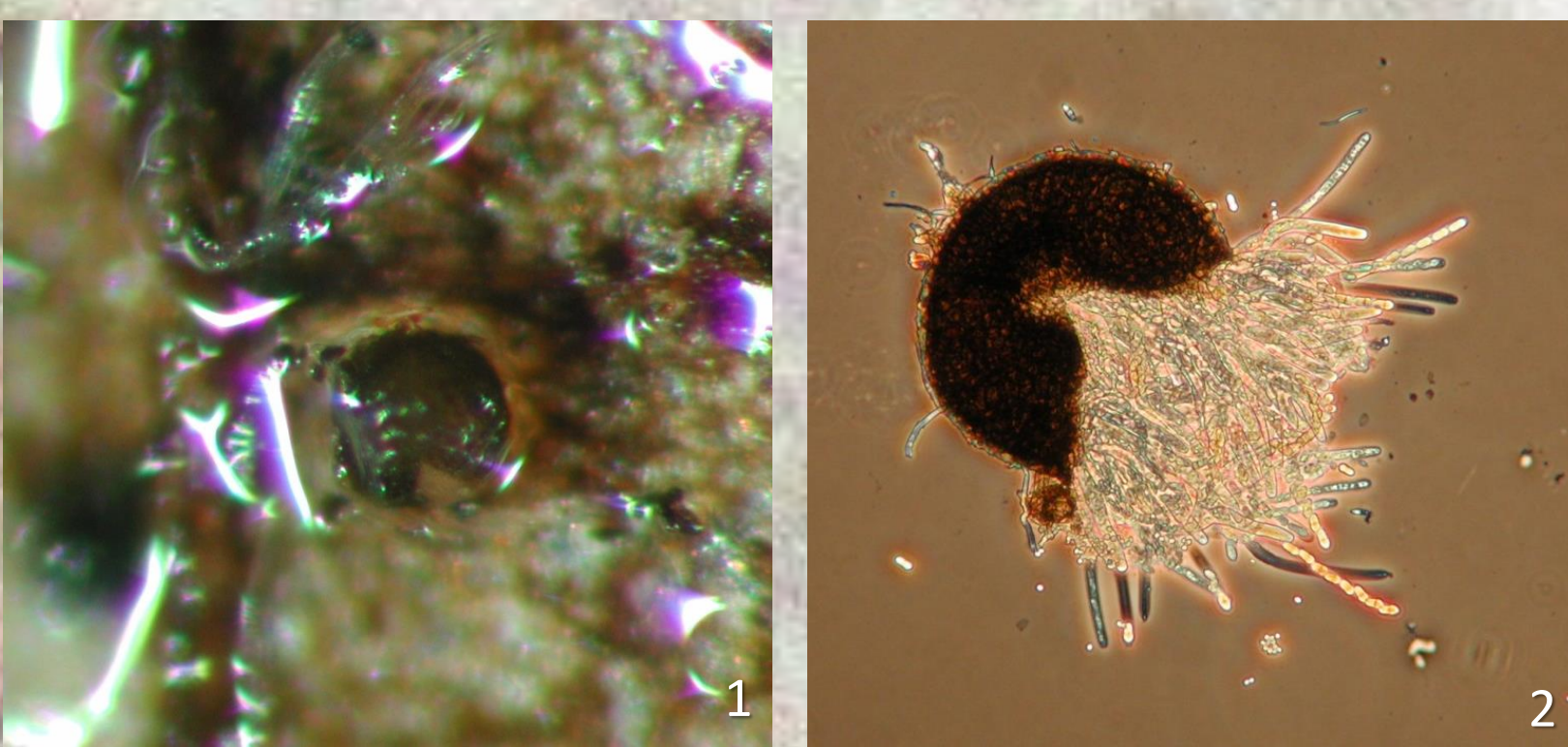
PRACTICAL ASPECT OF AEROBIOLOGICAL APPLESCAB ASCOSPORE (*Venturia inaequalis* [Cooke] Wint.) OUTBURSTS MEASUREMENTS

Apple scab primary infections are examined with different procedures. Amongst them are methods for detecting atmosphere ascospore inoculum discharge. During winter on fallen apple leaves fungus *Venturia inaequalis* develops fruiting bodies - pseudothecia in which asci with ascospores are formed. Ascospores outbursts start at favourable environmental conditions with adequate water and temperature, usually just before the apple tree growing season. Qualitative methods are based on comparison of condition and are conducted in orchard on dead apple leaves set with Vaseline slides or Hirst type of spore sampler. Set of leaves must not be bothered during the measurements. The intensity of separate outbursts is compared to previous ones. The quantity of inoculum starts to decrease at the end of May and is lastly released in the second decade of June. Both procedures are time consuming and enable mistakes. Of them, most common is visual misconception of *Venturia inaequalis* ascospores with *Alternaria* single septa spores that are frequent at apple scab primary infections endings. At that time leaf litter is inhabited with many saprophytic microorganisms. We can furthermore miss dried or by germ tube deformed ascospores. Quantitative measurements can proceed by cyclone spore sampler which samples actual quantity of particles in volume of air in specified time unit. Spores are caught in vials and allow further molecular diagnostic methods. This method has still limited application due to operation expenses and technical obstacles of the cyclone sampler.

Keywords: Apple scab, *Venturia inaequalis*, aerobiological measurements, ascospores, Hirst sampler, Vaseline slides, cyclone sampler

UVOD

Jablanov škrlup je v nasadih jablane najpomembnejša glivična bolezen. Povzročja jo vrsta *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter iz skupine askomicet. Za uspešno varstvo je napovedovanje možnih okužb odločilnega pomena. Primarne okužbe jablanovega škrlupa spremljamo z različnimi postopki, med katerimi so tudi metode za spremljanje sproščene inokuluma askospor v ozračje. *Venturia inaequalis* v zimskem času na odpadnem listju jablane oblikuje spolna plodišča – pseudotecije, v katerih se oblikujejo askusi z askosporami. Izbruhi askospor se začnejo ob ugodnih okoljskih razmerah z zadostno vlago in temperaturo, običajno tik pred začetkom vegetacijskega obdobja jablane. Poznamo dva tipa metod: kvalitativne in kvantitativne. Obe metodi imata svoje prednosti in tudi določene pomanjkljivosti.



Sliki 1 in 2: Pseudotecij glive *Venturia inaequalis* spomladi na odpadnem jablanovem listju (1) in razpočen med izbruhom askospor (2). Foto: D. Bajec
 Figures 1 and 2: *Venturia inaequalis* pseudothecium on fallen apple leaf during spring (1) and outburst during ascospore projection (2). Photo: D. Bajec

METODE IN MATERIALI

Kvalitativne metode temeljijo na primerjavi trenutno in predhodno sproščene inokuluma. Izvajamo jih v nasadu na pripravljenem nastavku okuženega odpadlega listja bodisi z vazelinskimi objektimi stekelci, bodisi s Hirst-ovim tipom lovilca spor. V nastavek med meritvami ne posegamo. Jakost posameznega izbruha ocenjujemo s primerjavo, po predhodnih meritvah. Meritve po kvantitativni metodi lahko izvajamo s ciklonskim povzročevalnikom, ki omogoča dejansko meritev količine delcev v volumnu zraka v določeni časovni enoti. Zajem delcev v kivetu omogoča tudi nadaljnje molekularno določanje količine infektivnega materiala.



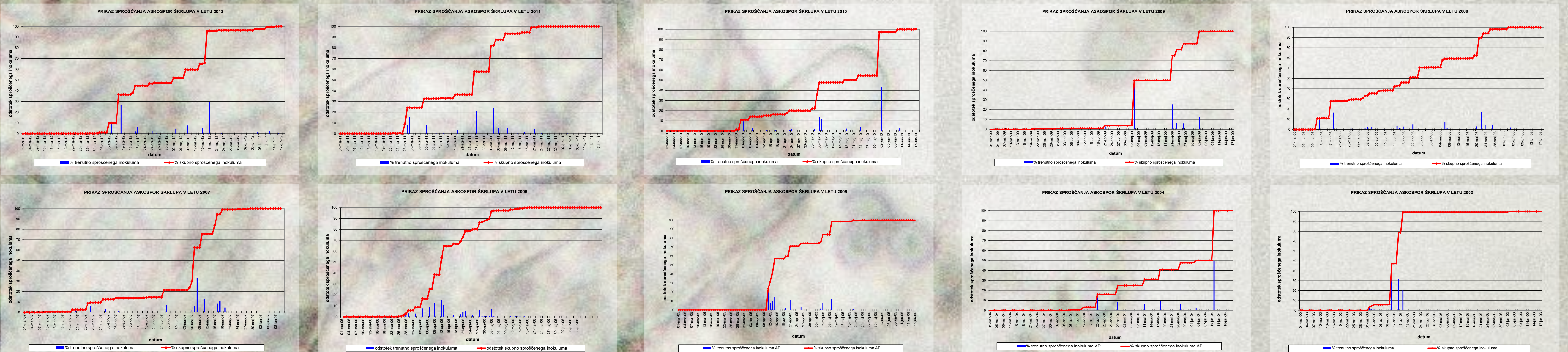
Slike 3 do 6: Meritve po kvalitativnih metodah z vazelinskimi objektimi stekelci (3) in Hirst-ovim modelom 7- dnevnega lovilca spor Burkard (4) med spremljanjem koncentracije peloda na strehi KGZS – Zavoda Novo mesto ter ciklonski model lovilca spor Burkard (5), ki omogoča meritve po kvantitativni metodi. Aluminijast cilindar (6) v katerem po vsesanju med vrtnčenjem zraka zastane večina vzorčenih delcev je označen s puščico. Foto: D. Bajec
 Figures 3 to 6: Qualitative method measurements with Vaseline slides (3), Hirst model of 7- day Burkard spore sampler (4) monitoring pollen concentration on KGZS – Zavod Novo mesto rooftop and cyclone model of Burkard spore sampler (5) which enables quantitative measurements. Aluminium cylinder (6) where deposits most of the sampled particles is marked with arrow. Photo: D. Bajec

REZULTATI IN RAZPRAVA

Oba postopka prepoznavanja spor po kvalitativni metodi sta časovno zamudna in omogočata napake. Količina inokuluma askospor začne ob koncu meseca maja praviloma upadati in se dokončno sprosti do druge dekade junija. Mestoma se v praksi ob zaključkih primarnih okužb z jablanovim škrlupom srečamo z nenavadnim povečevanjem števila askospor, kar je lahko posledica široke pestrosti mikoflore, hkrati pa nakazujejo na možne nepravilnosti pri njihovem prepoznavanju. Pri vizualnem prepoznavanju askospor *Venturia inaequalis* najpogosteje prihaja do zamenjav z njim podobnimi mono-septiranimi sporam *Alternaria* sp., ki so ob zaključevanju primarnih okužb z jablanovim škrlupom dokaj pogoste. Na odpadnem listju se namreč razvija pestra množica saprofitnih gliv. Po obliki, dimenzijah in terminu sproščanja obstaja tudi velika podobnost z askosporami vrst *Nectria* spp. V tem pogledu je spremljanje izbruhov askospor z vazelinskimi stekelci nameščeni tik nad odpadnim listjem zanesljivejše. Po drugi strani pa je pogosta tudi neprepoznavnost askospor *Venturia inaequalis* zaradi deformacije ob izsuševanju ali tvorbi kličnega mešička.

V grafikonih 1 do 10 je predstavljen potek sproščanja askospor v naravi v desetletnem obdobju med leti 2003-2012. Za začetek sproščanja inokuluma so odločilne okoljske razmere, ki vplivajo sprva na oblikovanje in razvoj pseudotecijev ter v nadaljevanju na oblikovanje, zorenje ter sproščanje askospor.

Kvantitativna metoda s ciklonskim povzročevalnikom je zaradi stroškov in tehničnih ovir lovilne naprave še vedno manj praktična. S preizkušanjem delovanja na askosporah drugih vrst gliv je Larson s sodelavci (2001) pokazal na tehnične pomanjkljivosti Burkard-ovega ciklonskega vzorčevalnika. Večina vzorčenega materiala namreč zastaja na površini aluminijastega cilindra, ki vrtnično vsesani zrak. Preizkušena naprava je trenutno edini komercialno dostopen ciklonski aerobiološki vzorčevalnik.



Slike 13 do 23: Prikaz dinamike sproščanja askospor glive *Venturia inaequalis* v deset letnem obdobju 2003-2012.
 Figure 13 to 22: Diagrams of *Venturia inaequalis* ascospores dispersal dynamics in ten years period 2003-2012.

VIRI: Letna poročila o ogosvalno-napovedovalni dejavnosti za leta 2002-12. KGZS – Zavod Novo mesto, Služba za varstvo rastlin. Bajec, D., Rodič, K., Peterlin, A. 2008. Standardni operativni postopki. Poslovnik kakovosti Službe za varstvo rastlin ver. 03. KGZS – Zavod Novo mesto, Služba za varstvo rastlin. Ciglar, L. 1998. Integralna zaščita vočnjaka i vinograda. Zrinski, Čakovec, s. 301. Larson, C., Franci, L. J., and Friesen, T. 2001. Evaluation of the Burkard cyclonic spore sampler for collection efficiency of ascospores. Plant Dis. 85:1249-1252. MacHardy, W.E. 1996. Apple Scab: Biology, Epidemiology, and Management, APS Press, St. Paul, Minnesota, s. 545. Mills, W. D., LaPlante, A. A. 1951. Control of diseases and insects in the orchard. New York Agricultural Experiment Station (Ithaca) extension bulletin Vol. 711, s. 18-22