

PRAKTI EN VIDIK AEROBIOTI NIH MERITEV IZBRUHOV ASKOSPOR JABLANOVEGA ŠKRLUPA (*Venturia inaequalis* [Cooke] Wint.)

Domen BAJEC¹, Andreja PETERLIN², Lucija LESKOVŠEK³, Karmen RODI⁴

^{1,2,4} KGZS – Zavod NM, Služba za varstvo rastlin, Novo mesto
³ Griže

IZVLE EK

Primarne okužbe jablanovega škrlupa spremljamo z različnimi postopki, med katerimi so tudi metode za spremljanje sprošenega askospora v ozračje. Gliva *Venturia inaequalis* v zimskem času na odpadlem listju jablane oblikuje spolna plodišča - pseudotecije, v katerih se oblikujejo askusi z askosporami. Izbruhi askospor se za nejo ob ugodnih okoljskih razmerah z zadostno vlago in temperaturo, navadno tik pred začetkom rastnega obdobja jablane. Kvalitativne metode temeljijo na primerjavi stanja. Izvajamo jih v nasadu na pripravljenem nastavku okuženega odpadlega listja bodisi z vazelinskimi objektnimi stekelci, bodisi Hirst-ovim tipom lovilca spore. V nastavek med meritvami ne posegamo. Jakost posameznega izbruha primerjamo s predhodnimi meritvami. Količina askospora se za ne ob koncu maja praviloma nižati 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 odpadlem listju razvije množica drugih saprofitskih gliv. Pogosta je tudi neprepoznavnost askospor *Venturia inaequalis* zaradi deformacije ob izsuševanju ali tvorbi klinične mešanice. Meritve po kvantitativni metodi lahko izvajamo s ciklonskim povzornim evalnikom, ki omogočata dejansko meritve količine delcev v volumnu zraka v določeni časovni enoti. Zajem delcev v kivetu omogočata tudi nadaljnje molekularno določanje. Ta metoda je zaradi stroškov in tehničnih ovir lovilne naprave še vedno manj praktična.

Ključne besede: aerobioti, meritve, askospore, ciklonski povzornik, Hirst-ov povzornik, jablanov škrlup

ABSTRACT

PRACTICAL ASPECT OF AEROBIOLOGICAL APPLE SCAB (*Venturia inaequalis* [Cooke] Wint.) ASCOSPORE 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

¹ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, SI-8000 Novo mesto

² dipl. inž. agr. in hort., prav tam

³ dr. agr. znan., Pongrac 83, 3302 Griže

⁴ univ. dipl. inž. agr., Šmihelska c. 14, 8000 Novo mesto

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: aerobiological measurements, Apple scab, ascospores, cyclone sampler, Hirst sampler

1 UVOD

Jablanov škrlup je v nasadih jablane najpomembnejša glivi na bolezen. Povzroča jo vrsta *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter iz skupine zaprtotrošnic. Za uspešno varstvo je napovedovanje možnih okužb odločilnega pomena. Primarne okužbe jablanovega škrlupa spremljamo z različnimi postopki, med katerimi so tudi metode za spremljanje sprošenega inokuluma askospor v ozračju. *Venturia inaequalis* v zimskem času na odpadlem listju jablane oblikuje spolna plodišča – pseudotecije, v katerih se oblikujejo askusi z askosporami. Izbruhi askospor se za neugodnih okoljskih razmerah z zadostno vlago in temperaturo, navadno tik pred začetkom vegetacijske dobe jablane. Poznamo dva tipa metod spremljanja: kvalitativne in kvantitativne. Obe metodi imata svoje prednosti in tudi določene pomanjkljivosti.

2 METODE IN MATERIALI

Kvalitativne metode temeljijo na primerjavi trenutno in predhodno sprošene inokuluma (Bajec in sod., 2008). Izvajamo jih v nasadu na pripravljenem nastavku okuženega odpadlega listja bodisi z vazelinskimi objektnimi stekelci (Ciglar, 1998), bodisi s Hirst-ovim tipom lovilca spor. V nastavek med meritvami ne posegamo. Jakost posameznega izbruha ocenjujemo s primerjavo predhodnih meritev.

Meritve po kvantitativni metodi lahko izvajamo s ciklonskim povzornikom, 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.

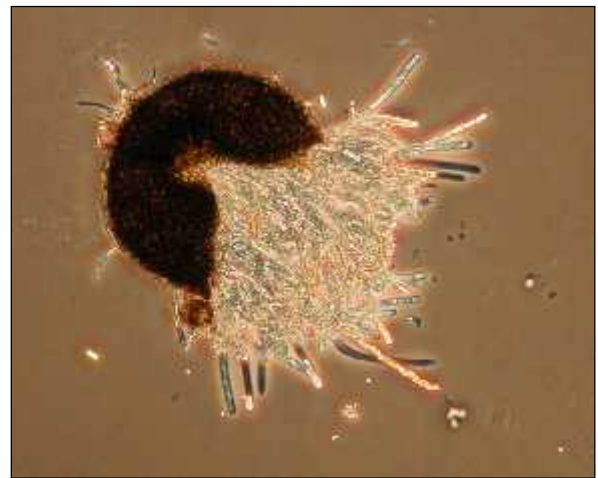
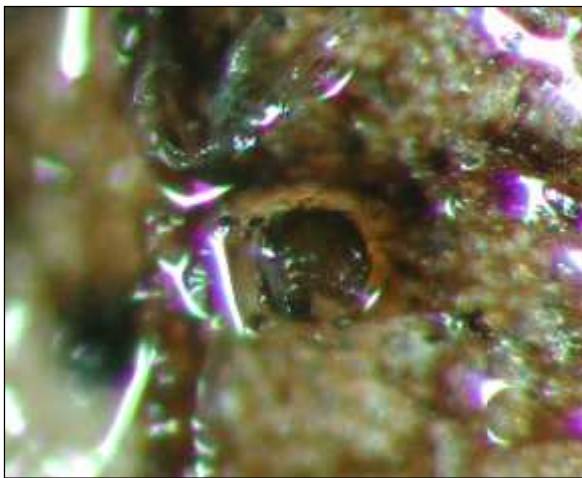
3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Oba postopka prepoznavanja spor po kvalitativni metodi sta časovno zamudna in omogočata napake (Bajec in sod., 2008). Količina inokuluma askospor za neugodnih razmerah 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 povečanjem 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 sporami *Alternaria* sp., ki so ob zaključku primarnih okužb z jablanovim škrlupom dokaj pogoste. Na odpadlem listju se namreč razvija pestra množica saprofitičnih gliv. Po obliki, dimenzijah in terminu sprošanja obstaja tudi velika podobnost z askosporami vrst *Nectria* spp. V tem pogledu je spremljanje izbruhov askospor z vazelinskimi stekelci nameščenimi tik

nad odpadlim listjem zanesljivejše. Po drugi strani pa je pogosta tudi neprepoznavnost askospor *Venturia inaequalis* zaradi deformacije ob izsuševanju ali tvorbi kli nega meši ka. Pri vrednotenju dinamike sproš anja askospor v naravi, v desetletnem obdobju 2003-2012 ugotavljamo, da so za za etek sproš anja inokuluma odlo ilne zlasti okoljske razmere, ki sprva vplivajo na oblikovanje in razvoj pseudotecijev ter v nadaljevanju na oblikovanje, zorenje ter sproš anje askospor. Inokulum askospor se praviloma sprosti konec prve dekade meseca junija.

Kvantitativna metoda s ciklonskim povzor evalnikom je zaradi stroškov in tehni nih ovir lovilne naprave še vedno manj prakti na. S preizkušanjem delovanja na askosporah drugih vrst gliv je namre Larson s sodelavci (2001) pokazal na tehni ne pomanjkljivosti Burkardovega ciklonskega vzor evalnika. Ve ina vzor enega materiala namre zastaja na površini aluminijastega cilindra, ki vrtin i vsesani zrak. Preizkušena naprava je trenutno edini komercialno dostopen ciklonski aerobioti ni vzor evalnik.

403



Sliki 1 in 2: Pseudotecij glive *Venturia inaequalis* spomladi na odpadlem jablanovem listu in razpo en med izbruhom askospor. Foto: D. Bajec

Figures 1 and 2. *Venturia inaequalis* pseudothecium in spring time on fallen apple leaf and outburst during ascospores projection. Photo D. Bajec



Slika 3: Askusi med sproš anjem 8 askospor *Venturia inaequalis*. Foto: D. Bajec

Figure 3: Asci during 8 *Venturia inaequalis* ascospores release. Photo: D. Bajec



Sliki 4 in 5: Spore *Alternaria* sp. z eno septo so po obliki in velikosti ($5-8 \times 15-18 \mu\text{m}$) mo no podobne askosporam *Venturia inaequalis* (velikost $5-6 \times 12-15 \mu\text{m}$). Na posnetku levo je prikazano oblikovanje spor z drobljenjem, brstenjem. Prikazane spore so vzgojene v kulturi iz konice hife. Foto: D. Bajec

Figures 4 and 5: *Alternaria* sp. Spores with one septa are by shape and dimension ($5-8 \times 15-18 \mu\text{m}$) much alike *Venturia inaequalis* (velikost $5-6 \times 12-15 \mu\text{m}$) ascospores. On figure left is shown spore formation by fragmentation. Demonstrated spores are cultured from hypha tip. Photo: D. Bajec

4 LITERATURA

- Bajec, D., Rodi, K., Peterlin, A. 2008. Standardni operativni postopki, Poslovník kakovosti Službe za varstvo rastlin ver. 03. KGZS – Zavod Novo mesto, Služba za varstvo rastlin.
- Ciglar, I., 1998. Integralna zaštita vo njaka i vinograda. Zrinski, akovec; str. 301
- Larson, C., Francl, 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; str. 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: 18-22
- Sodelavci Službe za varstvo rastlin. 2002-2012. Letna poročila o opazovalno napovedovalni dejavnosti za leta 2002-12. KGZS – Zavod Novo mesto, Služba za varstvo rastlin.