

Poročilo o okuženosti drugih možnih prenašalcev fitoplazme FD v vinogradih in v bližini vinogradov

Ozadje in namen raziskave

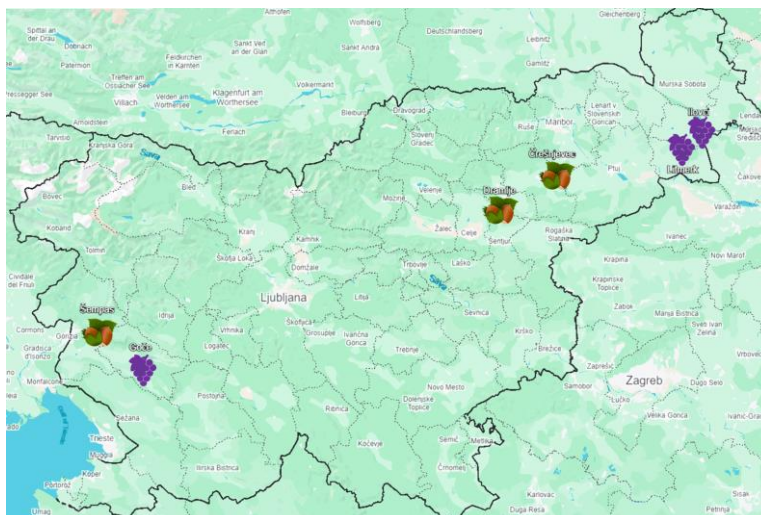
Fitoplazma *Grapevine flavescence dorée* (FD) iz skupine 16SrV, ki povzroča zlato trsno rumenico, je v EU uvrščena med karantenske škodljive organizme. V Sloveniji je bila prvič ugotovljena leta 2005, danes pa je navzoča v vseh vinorodnih deželah. Glavni prenašalec fitoplazme FD med trtami je ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus*), vendar so v zadnjih letih v Sloveniji in tujini zaznali tudi druge možne prenašalce, predvsem v povezavi z alternativnimi gostiteljskimi rastlinami, kot so leske (*Corylus avellana*), navadni srobot (*Clematis vitalba*) in jelša (*Alnus glutinosa*). Med najbolj skrb vzbujajočimi je vzhodnjaški škržatek (*Orientus ishidae*), ki je polifag in se je v zadnjih letih močno razširil po Sloveniji. (Casati in sod., 2017; Mehle in sod., 2019; Mehle in Dermastia, 2019; Malembic-Maher in sod., 2020; Kogej Zwitter in sod., 2023; Mehle in sod., 2024)

Namen raziskave je bil preveriti okuženost različnih vrst škržatkov – možnih prenašalcev fitoplazme FD – v vinogradih, nasadih lesk in njihovi okolici, ter oceniti njihovo vlogo pri prenosu fitoplazme FD iz alternativnih gostiteljev na trto in med leskami. S tem želimo prispevati k boljšemu razumevanju epidemiologije bolezni in podati strokovne podlage za učinkovitejša ukrepe za preprečevanje širjenja zlate trsne rumenice.

Postopek izvedbe raziskave

V obdobju od konca junija do začetka septembra 2024 smo v treh vinogradih iz območja s potrjeno okužbo z FD in v treh nasadih lesk s potrjeno okužbo s fitoplazmami skupine 16SrV ter njihovi okolici lovili škržatke – možne prenašalce FD (Slika 1). Na vsaki lokaciji smo v petih časovnih točkah izobesili rumene lepljive plošče, po petih dneh pa opravili vzorčenje ujetih škržatkov. Iz plošč smo odstranili samo vrste škržatkov, ki sodijo med možne prenašalce FD (glej: Seznam najverjetnejših oz. predvidoma najpomembnejših možnih prenašalcev fitoplazme FD iz alternativnih gostiteljev na trto in med leskami v Sloveniji). Vzorce škržatkov smo zbirali v entomološkem laboratoriju, kjer smo opravili morfološko analizo in identificirali vrste. Identificirane možne prenašalce FD smo ločili v podvzorke po vrsti, lokaciji in času ulova.

V laboratoriju smo iz vzorcev škržatkov sprali etanol, pripravili podvzorke z 1–10 osebkami, jih homogenizirali, izolirali celokupno DNA in analizirali s PCR v realnem času na prisotnost fitoplazem iz skupine 16SrV. Analize so bile izvedene v skladu z EPPO standardom (DNA ekstrakcija s KingFisher in PCR v realnem času kot opisano v Appendixu 4 EPPO (2016)). V primeru potrditve prisotnosti fitoplazme smo na vzorcih izvedli še dodatne molekularne analize (analiza gena *MAP*) za določitev map genotipa fitoplazme po protokolu opisanem v Kogej Zwitter in sod. (2023).



Slika 1: Lokacije vzorčenja v letu 2024. Označene so lokacije treh vinogradov s potrjeno okužbo z zlato trsno rumenico (ikona grozda) in treh nasadov lesk z okužbo s fitoplazmami skupine 16SrV (ikona lešnika). Vzorčenje škrdžatkov je potekalo na teh lokacijah in v njihovi neposredni bližini.

Rezultati raziskave

Skupno je bilo v letu 2024 ulovljenih 3052 škrdžatkov – možnih prenašalcev FD (Slika 2). Največji delež ulovljenih škrdžatkov pripada vrsti *Orientus ishidae*, ki je bila daleč najpogostejša tako v vinogradih kot v nasadih lesk. V vinogradih je bilo ulovljenih 299 primerkov te vrste, medtem ko jih je bilo v nasadih lesk kar 2565. Med ostalimi vrstami je bila v vinogradih najštevilčnejša *Anoplotettix fuscovenosus* (86 osebkov), sledijo *Phlogotettix cyclops* (16 osebkov), *Fieberiella flori* in *Allygus modestus* (vsak po 10 osebkov). V nasadih lesk so poleg vrste *O. ishidae* prevladovali še *Anoplotettix fuscovenosus* (15 osebkov) in *Phlogotettix cyclops* (15 osebkov). Ostale vrste škrdžatkov so bile na obeh gostiteljskih rastlinah in njihovi okolici zastopane v manjšem številu.

	št. škrdžatkov 	Št. škrdžatkov 
<i>Allygidius commutatus</i>	0	2
<i>Allygus mixtus</i>	2	2
<i>Allygus modestus</i>	10	2
<i>Anoplotettix fuscovenosus</i>	86	15
<i>Fieberiella flori</i>	10	8
<i>Lamprotettix nitidulus</i>	8	2
<i>Orientus ishidae</i>	299	2565
<i>Phlogotettix cyclops</i>	16	15
<i>Thamnotettix dilutior</i>	9	1
Skupaj:	440	2612

Slika 2: Število ulovljenih škrdžatkov po vrstah in gostiteljskih rastlinah v letu 2024. Prikazano je skupno število posameznih vrst škrdžatkov, ulovljenih v vinogradih z okolico (ikona grozda) in v nasadih lesk z okolico (ikona lešnika).

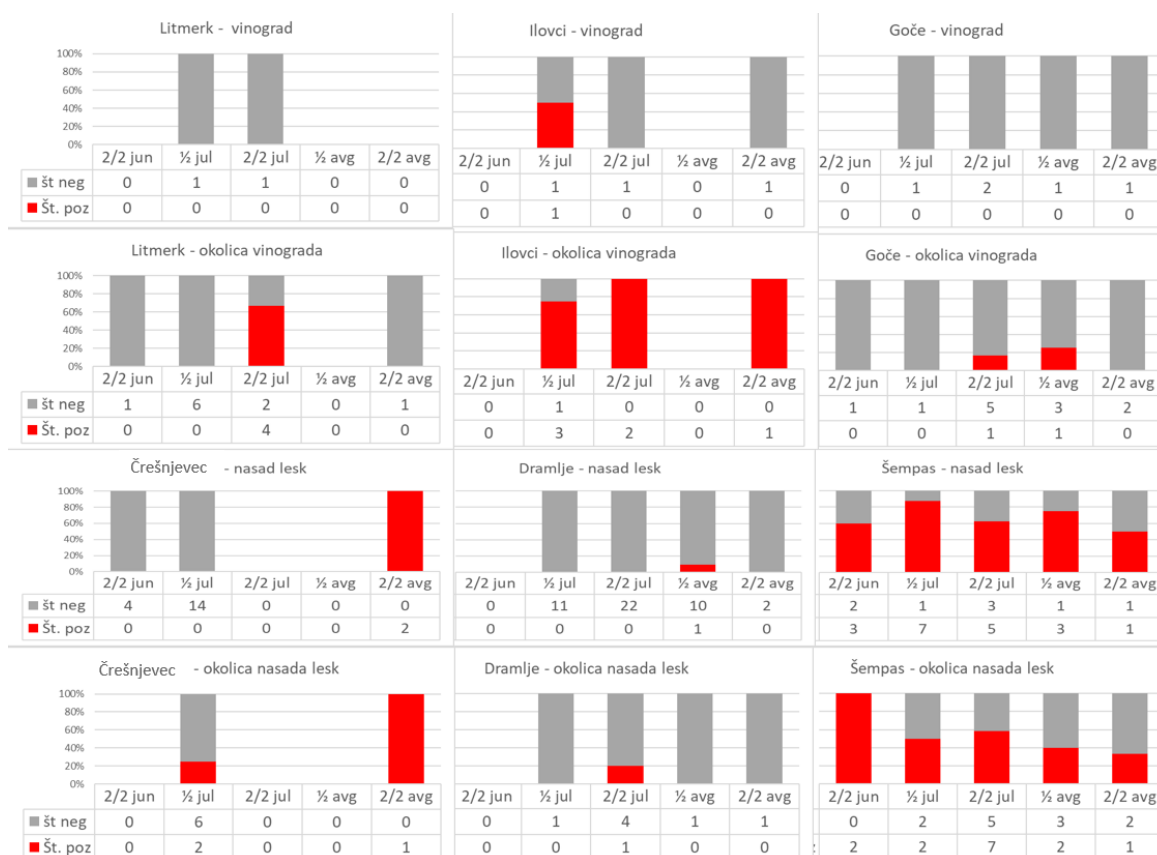
Od vseh ulovljenih škrdžatkov smo za nadaljnjo analizo izbrali 1407 osebkov, ki smo jih glede na vrsto, lokacijo in čas ulova združili v 263 vzorcev (vsak vzorec je vseboval od 1 do 10 osebkov iste vrste in iz istega okolja); skupno je bilo na fitoplazmo iz skupine 16SrV testiranih 106 vzorcev iz vinogradov in 157 iz nasadov lesk (Slika 3).

Največji delež pozitivnih vzorcev je bil ugotovljen pri vrsti *Orientus ishidae*, kjer je bilo v vinogradih z okolico pozitivnih 13 od 46 testiranih vzorcev (28%), v nasadih lesk z okolico pa 40 od 136 (29%) (Slika 3). V samih vinogradih smo ulovili zelo malo osebkov *O. ishidae* in med temi je bil le en vzorec pozitiven na prisotnost fitoplazme iz skupine 16SrV. Nekoliko več osebkov in pozitivnih vzorcev smo zabeležili v okolici vinogradov, kar nakazuje, da ta vrsta trte ne preferira kot gostitelja oziroma se v vinogradih zadržuje le občasno. Povsem drugačna je bila situacija v nasadih lesk in njihovi okolici, kjer je bilo ulovljenih bistveno več osebkov *O. ishidae*, prav tako pa je bil delež pozitivnih vzorcev višji. To potrjuje, da so leske in njihova okolica pomembnejši habitat za to vrsto, kar je pomembno tudi z vidika epidemiologije širjenja fitoplazme FD. Podrobnejša razporeditev pozitivnih in negativnih vzorcev *O. ishidae* po lokacijah in časovnih obdobjih je prikazana na Sliki 4.

Pri drugih vrstah je bila prisotnost fitoplazme potrjena le v posameznih vzorcih: pri *Anoplotettix fuscovenosus* v treh od 27 vzorcev (11%; pozitivni vzorci zabeleženi v okolici FD pozitivnih vinogradov v Ilovcih (2x) in Litmerku (1x)), pri *Phlogotettix cyclops* v enem od šestih vzorcev (17%; pozitiven vzorec iz okolice FD pozitivnega vinograda v Gočah) ter pri *Allygus modestus* v vzorcu iz okolice 16SrV pozitivnega nasada lesk v Šempasu. Pri ostalih vrstah škrdžatkov prisotnosti fitoplazme iz skupine 16SrV nismo zaznali (Slika 3).

	Št. poz/ št. testiranih 	Št. poz/ št. testiranih 
<i>Allygidius commutatus</i>	0 / 0	0 / 1
<i>Allygus mixtus</i>	0 / 2	0 / 1
<i>Allygus modestus</i>	0 / 7	1 / 1
<i>Anoplotettix fuscovenosus</i>	3 / 27	0 / 5
<i>Fieberiella flori</i>	0 / 4	0 / 6
<i>Lamprotettix nitidulus</i>	0 / 6	0 / 1
<i>Orientus ishidae</i>	13 / 46	40 / 136
<i>Phlogotettix cyclops</i>	1 / 6	0 / 5
<i>Thamnotettix dilutior</i>	0 / 8	0 / 1
Št. testiranih vzorcev:	106	157

Slika 3: Število pozitivnih in vseh testiranih vzorcev posameznih vrst škrdžatkov, analiziranih na prisotnost fitoplazme iz skupine 16SrV v letu 2024. Prikazani so rezultati za vzorce iz vinogradov z okolico (ikona grozda) in nasadov lesk z okolico (ikona lešnika).

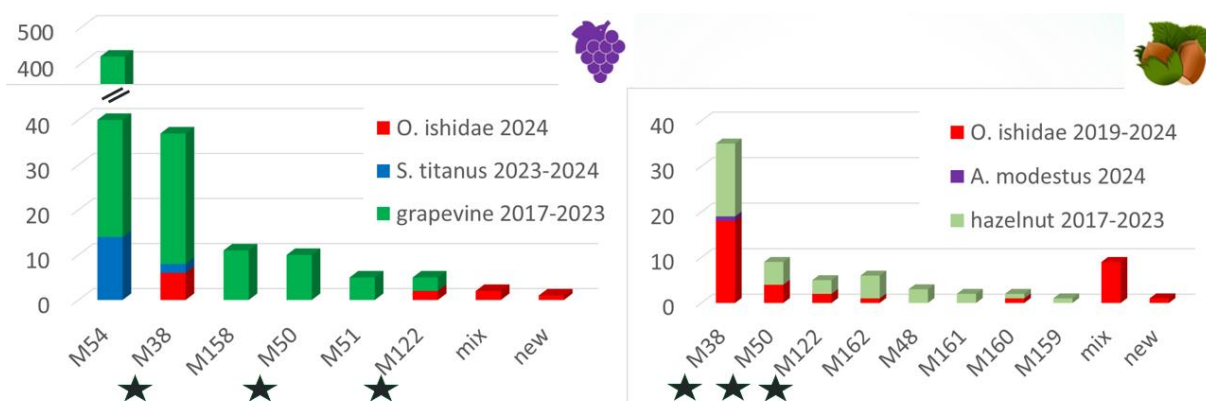


Slika 4: Število pozitivnih in negativnih vzorcev vrste *Orientus ishidae* po lokacijah (vinogradi, nasadi lesk in njihova okolica) ter časovnih obdobjih vzorčenja v letu 2024.

Pri določevanju genotipa map fitoplazme 16SrV smo ugotovili, da je bila koncentracija fitoplazme za uspešno analizo zadostna le v vzorcu vrste *Allygus modestus* in v 38 vzorcih vrste *Orientus ishidae* (11 iz vinogradov z okolico in 27 iz nasadov lesk z okolico). V vzorcu *A. modestus* je bil določen genotip M38, pri *O. ishidae* pa smo potrdili pretežno genotip M38 (19x), sledil je M50 (3x), nato M122 (2x) in M162 (1x), v 11 primerih smo zaznali mešanice različnih map genotipov, zabeležili pa smo tudi dva nova genotipa (M138 in M139).

Primerjava s podatki preteklih let (Slika 5; Kogej Zwitter in sod., 2023; Mehle in sod., 2024; Mehle in sod., 2025) pokaže jasen vzorec:

- Trta (2017–2023): izrazita prevlada M54; M38 je prisoten, vendar bistveno manj; ostali genotipi (M50, M51, M122, M158) se pojavljajo sporadično.
- *Scaphoideus titanus* (2023–2024): pretežno M54, posamično tudi M38.
- Leska (2017–2023): najpogostejše M38, občasno M50 in M122; poleg tega genotipi, ki jih na trti še nismo zaznali (M48, M159, M160, M161, M162).
- *O. ishidae* (2019–2024): prevladuje M38, prisotni M50, M122, M160, M162, mešanice in novi genotipi (M138 in M139).



Slika 5: Primerjava map genotipov fitoplazem 16SrV v različnih gostiteljih in prenašalcih.

Zaključek

Zaključki raziskave o okuženosti možnih prenašalcev fitoplazme FD:

- Vzhodnjaški škržatek (*Orientus ishidae*) kot pomemben možni prenašalec

Vrsta *O. ishidae* je bila daleč najpogostejša med ulovljenimi škržatki, zlasti v nasadih lesk, kjer je bila tudi najvišja stopnja okuženosti s fitoplazmo 16SrV (29 % pozitivnih vzorcev). To potrjuje, da leske predstavljajo pomemben habitat za to vrsto in možno žarišče širjenja bolezni.

- Okuženost drugih vrst škržatkov je bila nizka in lokalizirana

Prisotnost fitoplazme iz skupine 16SrV je bila potrjena pri posameznih vzorcih vrst *Anoplotettix fuscovenosus*, *Phlogotettix cyclops* in *Allygus modestus*. To nakazuje, da imajo te vrste omejeno vlogo pri širjenju bolezni, a jih ni mogoče povsem izključiti iz epidemiološke slike.

- Genetska raznolikost fitoplazme 16SrV med prenašalci in gostitelji

Analiza genotipov je pokazala, da pri *O. ishidae*, enako kot pri leskah, prevladuje genotip M38. Poleg tega smo pri *O. ishidae* zaznali tudi druge genotipe; pomembno pa je, da do sedaj genotip M54, ki sicer prevladuje na trti, pri *O. ishidae* še ni bil zaznan.

- Pomembnost alternativnih gostiteljskih rastlin

Rezultati potrjujejo, da alternativni gostitelji, kot so leske, lahko predstavljajo vir okužbe in habitat za prenašalce fitoplazme FD. To nakazuje potrebo po razširjenem pristopu k nadzoru bolezni, ki vključuje tudi okolico vinogradov in druge rastlinske vrste.

- Genetska raznolikost fitoplazme 16SrV pri *O. ishidae* in pomen za epidemiologijo

Rezultati nakazuje, da *O. ishidae* verjetno ne igra neposredne vloge pri prenosu genotipa M54, ki je najpogostejše povezan z okužbo trte, temveč je bolj vpleten v širjenje drugih genotipov fitoplazme FD, zlasti tistih, ki krožijo med alternativnimi gostitelji, kot so leske. Čeprav smo pri tej vrsti (in drugih vrstah) dokazali prisotnost

fitoplazme, to še ne potrjuje njene vloge kot dejanskega prenašalca – za to so potrebne dodatne raziskave, ki bi nedvoumno dokazale sposobnost prenosa fitoplazme na trto ali druge rastline.

Reference

Casati P., Jermini M., Quaglino F., Corbani G., Schaerer S., Passera A., Bianco P.A., Rigamonti I.E. 2017. New insights on flavescence dorée phytoplasma ecology in the vineyard agroecosystem in southern Switzerland. *Annals of Applied Biology*, 171: 37–51.

EPPO. 2016. PM7/79(2) Grapevine flavescence doree phytoplasma. *EPPO Bulletin*, 46 (1): 78-93.

Kogej Zwitter Z., Seljak G., Jakomin T., Brodarič J., Vučurović A., Pedemay S., Salar P., Malembic-Maher S., Foissac X., Mehle N. 2023. Epidemiology of flavescence dorée and hazelnut decline in Slovenia: geographical distribution and genetic diversity of the associated 16SrV phytoplasmas. *Frontiers in Plant Science*, 14:1217425.

Malembic-Maher S., Desqué D., Khalil D., Salar P., Bergey B., Danet J.-L., in sod. 2020. When a palearctic bacterium meets a nearctic insect vector: genetic and ecological insights into the emergence of the grapevine flavescence dorée epidemics in Europe. *PloS Pathogens*, 16, 3: e1007967.

Mehle N., Dermastia M. 2019. Towards the evaluation of potential insect vectors of phytoplasmas infecting hazelnut plants in Slovenia. *Phytopathogenic mollicutes*, 9, 1: 49-50.

Mehle N., Jakoš N., Mešl M., Miklavc J., Matko B., Rot M., Ferlež Rus A., Brus R., Dermastia M. 2019. Phytoplasmas associated with declining of hazelnut (*Corylus avellana*) in Slovenia. *European Journal of Plant Pathology*, 155: 1117–1132.

Mehle N., Kogej Zwitter Z., Bajde I., Brodarič J., Vučurović A. 2024. Nova spoznanja o epidemiologiji zlate trsne rumenice na osnovi proučevanja genetske raznolikosti povzročitelja bolezni. V: Trdan S. (ur.). Zbornik predavanj in referatov 16. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo: Bohinjska Bistrica, 5.-6. marec 2024. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 252-259.

Mehle N., Pirc M., Vučurović A., Camloh M., Kutnjak D., Pecman A., Alič Š., Benčič A., Grujić V., Turnšek N., Matičič J., Prijatelj-Novak Š., Blatnik A., Brodarič J., Bajde I., Bukvič V., Jakomin, T., Dreo T. 2025. Program strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin: naloge zdravstvenega varstva rastlin po javnem pooblastilu: končno poročilo o opravljenem delu na strokovni nalogi za leto 2024. Ljubljana: Nacionalni inštitut za biologijo, 112 str.