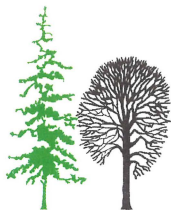


~~20080626~~
~~20080626~~
20080626



GOZDARSKI INŠTITUT SLOVENIJE

Laboratorij za varstvo gozdov
Večna pot 2, 1000 Ljubljana, Slovenija
tel: + 386 01 200 78 00 / fax: + 386 01 257 35 89

POROČILO O PRESKUSU

Analizni izvid: *Pinus* sp., 26. 6. 2008, Bled

Analizni izvid št. N20080626-001

1. Diagnostična preiskava je bila opravljena v Laboratoriju za varstvo gozdov, Gozdarskega inštituta Slovenije.

2. Ime in priimek naročnika:

Poročevalska, diagnostična in prognostična služba za gozdove - JGS

3. Naslov naročnika:

Gozdarski inštitut Slovenije (GIS), Večna pot 2, 1000 Ljubljana

4. Datum (in ura za uraden vzorec) prejema vzorca:

Odvzem 26. 6. 2008, ob 10.00.

5. Številka vzorca in opis:

Vzorec je shranjen v Mikoteki Gozdarskega inštituta Slovenije, št. 1666. Sestavljajo ga odmrle lanskoletne iglice bora (*Pinus* sp.) s črnimi trosišči glive.

6. Datum začetka preskusa:

26. 6. 2008

7. Potek diagnostične preiskave:

Vzorke odmrlih lanskoletnih iglic smo nabrali 26. 6. 2008 v Zdraviliškem parku na Bledu na spodnjem delu krošnje bora (*Pinus* sp.) (slika 1, za vse navedene slike glej Dodatek k analiznemu izvidu št. N20080626-001). Koordinate mesta vzorčenja so: X(m) 431560, Y(m) 136699, nadmorska višina je 486 m (ugotovljeno po topografski karti 1:50.000), kvadrant kartiranja evropske flore je 9650/2. Vrste gostitelja še nismo s sigurnostjo določili, vendar menimo, da je drevo rdeči bor (*Pinus sylvestris* L.). Vzorke smo odvzeli zato, ker so bile v spodnjem delu krošnje odmrle vse lanskoletne iglice, le letošnje so bile še zelene (slika 2, slika 3). Različne vrste borov obdržijo iglice več let, npr. rušje (*Pinus mugo* Turra) celo 7 in več let (slika 4). Izgled okužbe je omogočal sum na rjavenje borovih iglic, ki ga povzroča gliva *Mycosphaerella dearnessii* M.E. Barr (sin. *Scirrhia acicola* (Dearness) Siggers), saj na odmrlih iglicah ni bilo značilnih rdeče rjavih peg, ki so značilne za bolezen rdeča pegavost borovih iglic, ki jo povzroča sorodna gliva *Mycosphaerella pini* Rostr., (sin. *Scirrhia pini* A. Funk & A.K. Parker). Poleg tega pa smo s hitrim in nenatančnim pregledom različnih vrst borov na Bledu ugotovili tudi močno odmiranje dveletnih iglic rušja (*Pinus mugo* Turra) v parku pri hotelu

Jadran (slika 5) in rahlo odmiranje dveletnih iglic rušja na več grmih ob sprehajalni poti ob jezeru (slika 6), od koder pa vzorcev nismo odvzeli.

V Laboratoriju za varstvo gozdov GIS smo črna trosišča na iglicah mikroskopirali takoj, približno 30 iglic pa smo navlažili in jih dva dni gojili na vlažnem filtrirnem papirju v petrijevki pri sobni temperaturi ter jih po tem času pregledali z binokularjem (Stereo mikroskop SZX 12, DF PLFL 0,5X PF, Olympus, Japan). V vlažnem okolju so konidiomi po dveh dneh izločili velike količine konidijev v sluzasti olivno zeleno-rjavi masi (slika 7) ali v obliki jezičkov oziroma vitic, ki so bile enake barve (slika 8). Pregled črnih trosišč z mikroskopom (Mikroskop BX51, Olympus, Japan) je pokazal, da so to acervuli pod povrhnjico iglice. Konidiji so bili ravni ali ukrivljeni, rahlo rjavi, z debelo steno, ki je imela drobne bradavičaste izboklinice. Njihov vrh je bil zaobljen, osnova prisekana, imeli so 0-6 pregrad (sept), večinoma pa 3 do 4. Izmerili smo 50 konidijev v vodi, njihova velikost je bila $30,0 (16,5-42,0) \times 4,0 (2,5-5) \mu\text{m}$ (slike 9 do 14). Konidiogene celice so bile gladke, cevaste, močno so se obarvale z lakto fenol bombažnim modrilom (lactophenol cotton blue), bile so holoblastične (slika 13).

Odmirajoče ali odmrle iglice smo v Laboratoriju za varstvo gozdov GIS razrezali na koščke dolge pribl. 5 mm in jih sterilizirali v 50% NaOCl (Varekina, 6,7% aktivnega klora) 3 min. Odvečni sterilizant smo odstranili s pivnikom in delčke položili na sterilno 2% gojišče MEA (sladni ekstrakt 20g/l, agar 20g/l). Belo podgobje glive je počasi izraščalo iz delca iglice, zelo hitro pa se je na njem oblikovala črna stromatična plast in na ali v njej konidiomi. Po 14 dneh na 20°C so imela posamezna podgobja v čisti kulturi premer 0,2 do 1,0 cm. Konidiomi izločajo veliko količino olivno zelenih konidijev, ki imajo enake značilnosti kot konidiji iz vzorcev odmrlih iglic (slika 14).

Opažene in izmerjene značilnosti trosišč, trosov in čiste kulture glive omogočajo determinacijo glive *Lecanosticta acicola* (Thüm.) Syd., ki je anamorf glive *Mycosphaerella dearnessii* M.E. Barr.

Diagnostični protokol za glivo *Mycosphaerella dearnessii* definira tri morfološke metode določitve glive (1-analiza morfologije trosišč v vzorcu; 2-inkubacija vzorca v vlažnem okolju, ki ji sledi analiza morfologije trosišč; 3-izolacija glive v čisto kulturo in analiza trosišč) in eno molekularno metodo določitve glive (ITS RFLP na osnovi PCR)(Anon. 2005). Vse metode so enakovredne in vsaka zase omogoča nedvoumno determinacijo. Opravili smo determinacijo po metodi 1, 2 in 3 in najdba glive je tako dokazana.

8. Specifikacija diagnostične preiskave:

Anon., 2005. EPPO Diagnostic protocols for regulated pests - PM 7/46, *Mycosphaerella dearnessii*. Bulletin OEPP/EPPO 35, 271-273.

9. Odstopanje od specifikacije:

Ni odstopanja, rahle modifikacije pri metodah izolacije (opis pod točko 7 tega poročila)

10. Rezultat:

Mycosphaerella dearnessii M.E. Barr (sin. *Scirrhia acicola* (Dearness) Siggers) (teleomorf) anamorf: *Lecanosticta acicola* (Thüm.) Syd., sin. *Dothistroma acicola* (Thüm.) Schischkina & Tsanova

11. Datum zaključka preskusa:

10. 7. 2008

12. Izjava determinatorja:

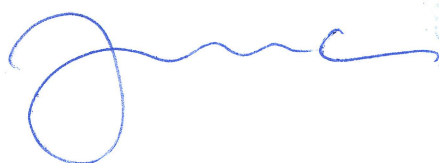
Rezultati diagnostične preiskave se nanašajo izključno na primerke, ki so bili preiskani.

13. Izjava Gozdarskega inštituta Slovenije:

Poročilo se brez pisnega pristanka laboratorija ne sme reproducirati.

Analizni izvid opravil:

doc. dr. Dušan Jurc



Tehnično odgovornost prevzema:

direktor GIS

prof dr. dr. h. c. Niko Torelli

Datum izdaje poročila: 10. 7. 2008

Dodatek k analiznemu izvidu št.: N20080626-001

1) KOMENTAR IN PREDLOGI ZA UKREPANJE

Gliva je uvrščena na **EPPO A2 listo** s številko 22, in je na prilogi Direktive sveta št. 2000/29/ES (Škodljivi organizmi, za katere ni znano, ali so navzoči v skupnosti, in ki so pomembni za vso skupnost) **II/A1** (kot *Scirrhia acicola*). Gliva povzroča bolezen z imenom **rjavenje borovih iglic** (Jurc 2007a).

O bolezni so poročali iz Švice (Holdenrieder in Sieber 1995), iz Nemčije (Pehl 1995), Avstrije (Brandstetter in Cech 2003), Francije (Chandelier et al 1994) in že dolgo je znana iz Jugoslavije (Smith et al 1993, na Hrvaškem). V Sloveniji doslej ni bila najdena. Povsod jo je fitosanitarna administracija posamezne države poskušala izkoreniniti.

Predlog za ukrepanje:

- 1) Ugotovitev razširjenosti bolezni na Bledu in v okolici

Determinacija bolezni rjavenje borovih iglic mora temeljiti na mikroskopiranju zrelih trosišč (ali na izolaciji v čisto kulturo), kajti makroskopsko ji je zelo podobna bolezen rdeča pegavost borovih iglic. Na vzorcih iglic iz Bleda so bile prisotne posamične okužbe z *Mycosphaerella pini*. Poleg tega kužijo borove iglice še druge glive, ki povzročajo podobna znamenja bolezni kot *Mycosphaerella dearnessii* (npr. *Cyclaneusma minus*, *Lophodermium* spp. in druge) (Jurc 2007a, Jurc 2007b). V kolikor bo ugotovljena obsežna prostorska razširjenost bolezni, bi bilo za hitro in množično determinacijo vzorcev ustrezno vpeljati molekularne tehnike določanja glive. Že ob bežnem pregledu blejskih parkov smo ugotovili veliko razliko v okuženosti različnih vrst borov in veliko razliko v okuženosti posameznih osebkov ene vrste.

Poseben problem predstavlja pregled in vzorčenje odraslih borov v gozdnih sestojih, saj so ti sestoji v neposredni bližini najdišča bolezni (črni bor v sestojih pod blejskim gradom, sestoji rdečega bora od Bleda proti Šobčevemu bajerju in na golf igrišču).

- 2) Takojšnje uničenje s sežiganjem vseh okuženih dreves in opada (odmrle iglice).

- 3) Monitoring pojava bolezni v naslednjih letih po uničenju okuženih dreves.

Predlagamo tudi, da je pri izvedbi vseh treh predlaganih ukrepov vključena poleg vseh pristojnih institucij tudi javna gozdarska služba, v okviru svojih pristojnosti (Zavod za gozdove Slovenije in Gozdarski inštitut Slovenije).

2) DOKUMENTACIJA S FOTOGRAFIJAMI:



Slika 1. Bor v Zdraviliškem parku na Bledu, iz katerega je bil odvzet vzorec odmrlih iglic



Slika 2. V spodnjem delu krošnje so odmrle vse lanskoletne iglice



Slika 3. Na odmrlih iglicah ni opaziti rdeče rjavih peg, zato je mogoč sum na rjavenje borovih iglic.



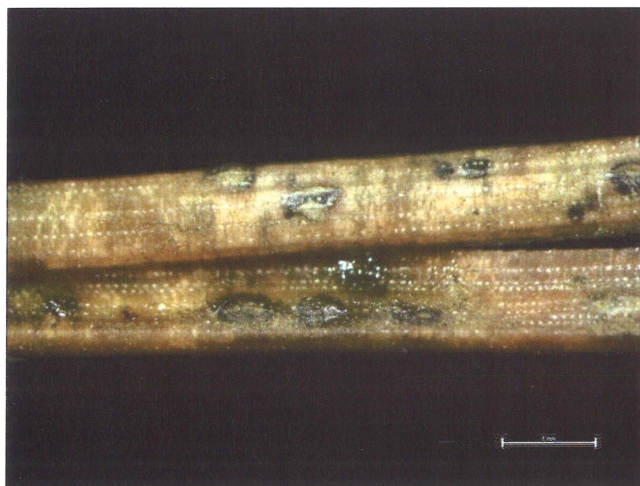
Slika 4. Bori obdržijo iglice več let, npr. rušje več kot sedem let (sprehajalna pot ob blejskem jezeru).



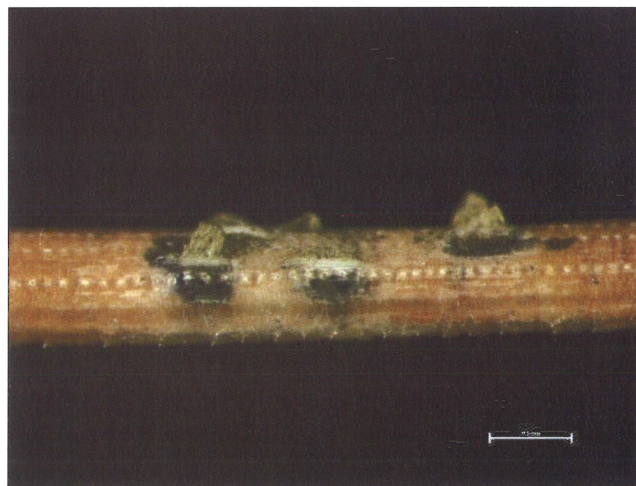
Slika 5. Rušje v parku pri hotelu Jadran z močno obolelimi lanskoletnimi iglicami



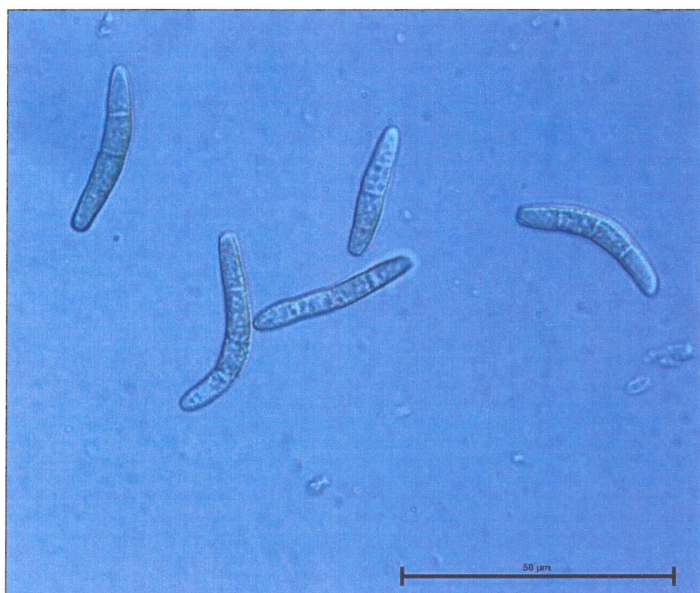
Slika 6. Nekaterim grmom rušja ob blejskem jezeru lanskoletne iglice odmirajo



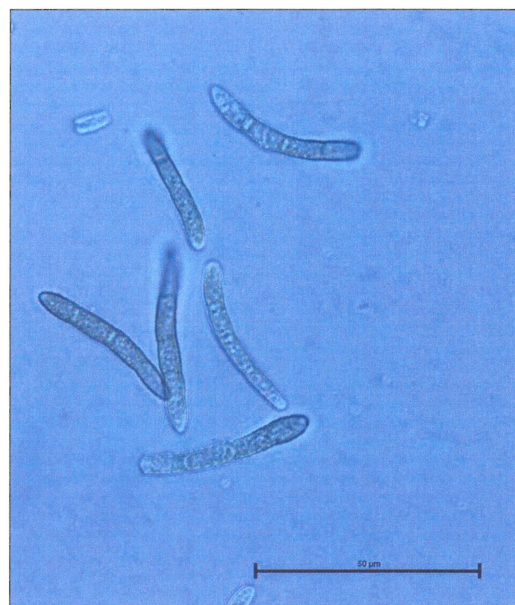
Slika 7. Črna stromatična trosišča v vlažnem okolju izločajo konidije v sluzasti olivno zeleno-rjavi masi



Slika 8. Iz manj navlaženih iglic se konidiji izločajo v olivno zeleno-rjavih jezičkih oziroma viticah



Slika 9. Konidiji v vodi, opazna je rahlo bradavičasta struktura stene konidijev, zaobljen vrh in prisekana osnova



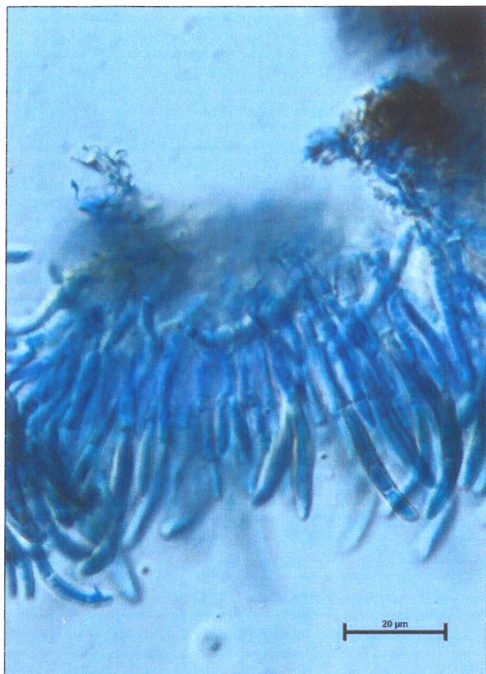
Slika 10. Konidiji v vodi, opazna je rahla rjava obarvanost, so ravni ali ukrivljeni



Slika 11. Konidiji obarvani z lakto fenol bombažnim modrilom, opazna je debela stena in nekateri so močno ukrivljeni



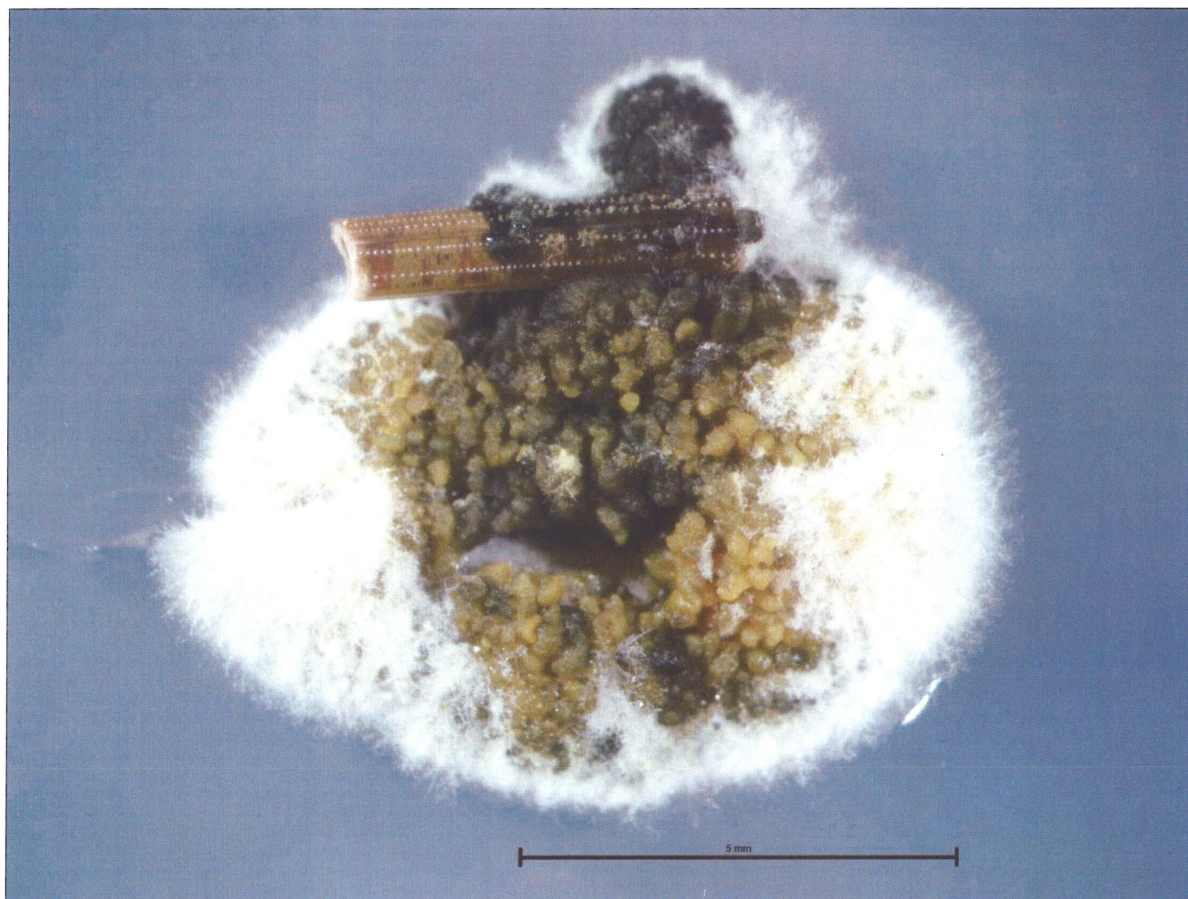
Slika 12. Konidiji obarvani z lakto fenol bombažnim modrilom, dobro so opazne pregrade (septe)



Slika 13. Konidiogene celice so cevaste in dolge, na njih so nezreli konidiji (obarvano z lakto fenol bombažnim modrilom)



Slika 14. Nekateri konidiji imajo do 6 pregrad (sept)

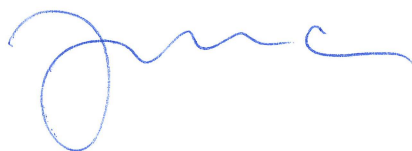


Slika 14. Belo podgobje glive *M. dearnessii* izrašča iz delčka iglice in po 14 dneh od izolacije oblikuje črno stromatično plast in v nej ali na njej številne konidiome, ki izločajo svetlo rjave konidije.

Viri:

- Anon., 2005. EPPO Diagnostic protocols for regulated pests - PM 7/46, *Mycosphaerella dearnessii*. Bulletin OEPP/EPPO 35, 299-301.
[http://www.eppo.org/QUARANTINE/fungi/Mycosphaerella_dearnessii/pm7-46\(1\)%20SCIRAC%20web.pdf](http://www.eppo.org/QUARANTINE/fungi/Mycosphaerella_dearnessii/pm7-46(1)%20SCIRAC%20web.pdf)
- Brandstetter M., Cech T., 2003. Lecanosticta – Kiefernadelbräune (*Mycosphaerella dearnessii* Barr) in NiederÖsterreich. Centralblatt für das Gesamte Forstwesen, 3/4, 163-176.
- Chandelier P., Lafaurie C., Maugard F., 1994. Decouverte en France de *Mycosphaerella dearnessii* sur *Pinus attenuata* × *radiata*. C.R. Acad. Agric. Fr., 80, 103-108.
- Holdenrieder O., Sieber T.N., 1995. First report of *Mycosphaerella dearnessii* in Switzerland. Eur. J. For. Path., 25, 293-295.
- Jurc D., 2007a. Bori - *Pinus* spp.: bolezni iglic : *Lophodermium seditiosum*, *Mycosphaerella pini*, *Mycosphaerella dearnessii*, *Cyclaneusma minus* = Pines - *Pinus* spp. : diseases of needles. Gozd. vestn., letn. 65, št. 7/8, str. 321-336, ilustr. [COBISS.SI-ID 2071718]
- Jurc D., 2007b. Bori - *Pinus* spp. : bolezni iglic : *Coleosporium tussilaginis*, *Thyriopsis halepensis*, *Meloderma desmazieri* = Pines - *Pinus* spp. : diseases of needles. Gozd. vestn., letn. 65, št. 9, str. 393-408, ilustr. [COBISS.SI-ID 2103974]
- Pehl L., 1995. Lecanosticta-Nadelbräune. Eine neue Kiefernkrankheit in der Bundesrepublik Deutschland. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. 47, 305-309.
- Smith I.M., McNamara D.G., Scott P.R., Harris K.M., 1993. Quarantine pests for Europe. Wallingford, Commonwealth Agricultural Bureau (CAB) International.

Dodatek k analiznemu izvidu sestavlja:
doc. dr. Dušan Jurc



Tehnično odgovornost prevzema
direktor GIS:
prof dr. dr. h. c. Niko Torelli



Datum: 10. 7. 2008