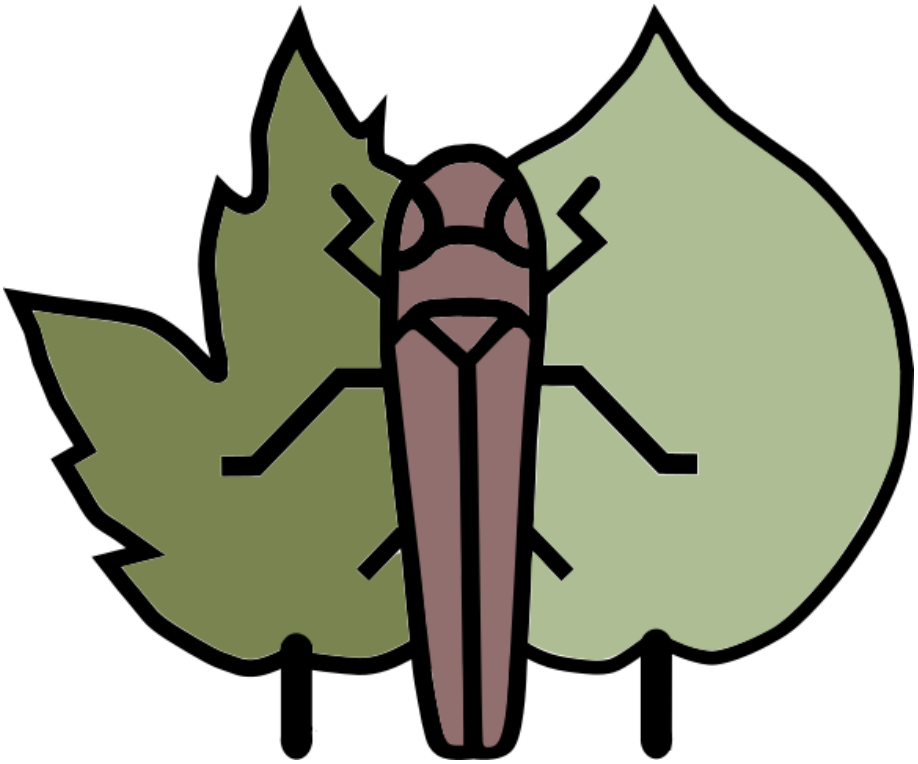


UKREPI ZA PREPREČEVANJE NADALJNJEGA ŠIRJENJA ZLATE TRSNE RUMENICE

(FD-GAMEPLAN)

Oznaka projekta: V4-2225

Ciljni raziskovalni projekt, ki sta ga financirala Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS) ter Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano (MKGP).

Partnerji v projektu:

- Nacionalni inštitut za biologijo (NIB)
- Kmetijsko gozdarski zavod Maribor (KGZ MB)
- Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica (KGZ NG)
- Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS)
- Kmetijski inštitut Slovenije (KIS)

Koordinator projekta: Nataša Mehle (NIB)

Sodelujoči:

- NIB: Zala Kogej Zwitter, Ana Vučurović, Jakob Brodarič, Irena Bajde, Tjaša Jakomin
- KGZ MB: Jože Miklavc, Miro Mešl, Leonida Lešnik, Rok Veber, Urška Škrabar
- KGZ NG: Ivan Žezlina, Mojca Rot, Branko Carlevaris, Marko Devetak, Jan Žežlina, Vasja Juretič, Julija Dariž, Gabrijel Seljak
- IHPS: Magda Rak Cizej, Alenka Ferlež Rus, Franček Poličnik, Octave Lacroix
- KIS: Uroš Žibrat, Daša Donša, Andrej Vončina, Matej Knapič

Več o projektu na: https://projects.nib.si/fdgameplan/

Vsebina

Povzetek ... 4

Abstract ... 4

Opis problema in ciljev ... 5

Kratek povzetek ključnih ugotovitev iz literature ... 7

Uporabljena metoda dela ... 10

DS1 Koordinacija ... 12

DS2 Možnost ugotavljanja Grapevine flavescence dorée fitoplazme (FD) v preimaginalnih stadijih ameriškega škržatka (Scaphoideus titanus Ball) ... 12

DS3 Drugi možni prenašalci fitoplazme FD in njihova prisotnost v Sloveniji ... 13

DS4 Okuženost drugih možnih prenašalcev fitoplazme FD v vinogradih, nasadih lesk in v njihovi okolici ... 14

DS5 Proučevanje vzhodnjaškega škratka (Orientus ishidae) ... 15

DS6 Pomen lesk kot rezervoar za prenos FD na trto ... 16

DS7 Daljinsko zaznavanje z metodo hiperspektralnega slikanja z letalom za zgodnje odkrivanje okužb z FD ... 18

Rezultati raziskave ... 23

DS1 Koordinacija ... 23

DS2 Možnost ugotavljanja Grapevine flavescence dorée fitoplazme (FD) v preimaginalnih stadijih ameriškega škržatka (Scaphoideus titanus Ball) ... 23

DS3 Drugi možni prenašalci fitoplazme FD in njihova prisotnost v Sloveniji ... 23

DS4 Okuženost drugih možnih prenašalcev fitoplazme FD v vinogradih, nasadih lesk in v njihovi okolici ... 29

DS5 Proučevanje vzhodnjaškega škratka (Orientus ishidae) ... 32

DS6 Pomen lesk kot rezervoar za prenos FD na trto ... 37

DS7 Daljinsko zaznavanje z metodo hiperspektralnega slikanja z letalom za zgodnje odkrivanje okužb z FD ... 37

Razprava, zaključki in priporočila naročniku ... 43

Bibliografski in drugi doseženi rezultati projektne skupine ... 47

Povzetek

V projektu FD-GamePlan smo raziskovali epidemiologijo zlate trsne rumenice (FD) v Sloveniji, s poudarkom na vektorjih, rezervoarjih okužbe in možnostih zgodnjega zaznavanja bolezni. Preverili smo možnost odkrivanja fitoplazme FD v preimaginalnih stadijih ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*) in ugotovili, da je prisotnost fitoplazme v nimfah zelo nizka, zato ta pristop ni primeren za zgodnje odkrivanje okužb. V vinogradih je bil najpogostejši ameriški škržatek, medtem ko je bil vzhodnjaški škržatek (*Orientus ishidae*) daleč najštevilčnejši v nasadih lesk in njihovi okolici, pri čemer se je izkazalo, da je bil pomemben delež teh osebkov okužen s fitoplazmo FD. Pri drugih vrstah škržatkov je bila prisotnost fitoplazme FD potrjena le posamično. Analize, izvedene na leskah, so pokazale, da leske glede na rezultate tega projekta niso ključni vir težav z zlato trsno rumenico v slovenskih vinogradih, lahko pa predstavljajo pomemben rezervoar genetske raznolikosti fitoplazem, povezanih z zlato trsno rumenico. V okviru projekta smo se osredotočali tudi na razvoj metode letalskega hiperspektralnega slikanja, s katero bi lahko prostorsko natančno in bolj zgodaj zaznavali okužbe z FD na večjih vinogradniških površinah. Rezultati projekta prispevajo k boljšemu razumevanju širjenja FD v Sloveniji in predstavljajo podlago za nadaljnje izboljšave fitosanitarnega varstva vinske trte.

Abstract

In the FD-GamePlan project, we investigated the epidemiology of Flavescence dorée (FD) in Slovenia, focusing on vectors, infection reservoirs, and possibilities for early disease detection. We examined the potential for detecting FD phytoplasma in pre-imaginal stages of *Scaphoideus titanus* and found that the presence of phytoplasma in nymphs is very low, making this approach unsuitable for early infection detection. In vineyards, *Scaphoideus titanus* was the most common species, while *Orientus ishidae* was by far the most abundant in hazelnut orchards and their surroundings, with a significant proportion of individuals infected with FD phytoplasma. In other leafhopper species, FD phytoplasma was detected only sporadically. Analyses conducted on hazelnuts showed that, based on this project's results, hazelnuts are not a key source of Flavescence dorée problems in Slovenian vineyards, but they may represent an important reservoir of genetic diversity of FD-associated phytoplasmas. The project also focused on developing an aerial hyperspectral imaging method to enable spatially precise and earlier detection of FD infections across larger vineyard areas. The project results contribute to a better understanding of FD spread in Slovenia and provide a basis for further improvements in grapevine phytosanitary protection.

Opis problema in ciljev

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 v okolici Kopra leta 2005. Leta 2008 je bila prvič ugotovljena v Posavju v okolici Brežic, v letu 2009 pa tudi na Štajerskem. V naslednjih letih so sledile številne najdbe v vseh vinorodnih deželah. Večji izbruhi so bili ugotovljeni v slovenski Istri, na Krasu in na Dolenjskem v okolici Novega mesta. V letu 2021 je bil obsežen izbruh ugotovljen na Ljutomersko Ormoškem območju.

Trta (*Vitis*) je lahko okužena z različnimi izolati fitoplazem iz skupine 16SrV. Za nekatere izmed njih (t.i. izolate fitoplazme FD) so dokazali, da lahko povzročijo epifitocije, saj jih med trtami zelo učinkovito prenaša ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus*). Fitoplazme iz skupine 16SrV, ki so podobne ali enake fitoplazmi, ki povzroča zlato trsno rumenico, so bile ugotovljene tudi v drugih gostiteljskih rastlinah, kot so navadni srobot (*Clematis vitalba*), črna jelša (*Alnus glutinosa*), veliki pajesen (*Ailanthus altissima*) in leska (*Corylus avellana*). Okužbe s fitoplazmami iz skupine 16SrV so bile v Sloveniji potrjene v propadajočih gojenih leskah, ni pa bilo poznano ali so te fitoplazme v Sloveniji navzoče tudi v samoniklih leskah in ali leske (samonikle in gojene) predstavljajo vir za okužbe trt. Poznavanje možnih rezervoarjev fitoplazme FD v okolici vinogradov je nujno za pravilno načrtovanje omejevanja širjenja te bolezni v prihodnje.

Za pravilno načrtovanje omejevanja širjenja zlate trsne rumenice v vinogradih je nujno tudi poznavanje možnih prenašalcev fitoplazme FD. Ni pomembno le poznavanje prenašalca fitoplazme FD med trtami, pač pa tudi poznavanje žuželčjih prenašalcev, ki lahko fitoplazmo zanesejo iz alternativnih gostiteljev na trto. V Sloveniji zastopanost različnih možnih prenašalcev in njihova vloga pri prenosu fitoplazme FD iz alternativnih gostiteljev na trto ni bila dobro poznana. Med najbolj zaskrbljujočimi vrstami smo prepoznali vzhodnjaškega škržatka (*Orientus ishidae*), ki je polifag in se je od prve najdbe leta 2004 razširil po celotni Sloveniji. Velike populacije vzhodnjaškega škržatka so bile ugotovljene v nasadih lesk v SV in JZ Sloveniji. V škržatkih je bila potrjena prisotnost fitoplazem 16SrV skupine, vključno z izolati za katere vemo, da jih med trtami lahko raznaša ameriški škržatek. Ni pa še bilo dokazano, da bi vzhodnjaški škržatek lahko prenesel fitoplazmo FD iz leske na trto in niti ne, da jo raznaša med leskami. V primeru, da se to potrdi, bo potrebno vpeljati v prakso način, ki bo omogočal obvladovanje populacij teh škržatkov (na primer z insekticidi), za kar pa je potrebno poznavanje njegove bionomije, ki ni bila dobro raziskana, kot tudi najti učinkovita sredstva, ki bi se smela uporabljati na leskah.

Glavni ukrep, ki se trenutno uporablja za zatiranje širjenja zlate trsne rumenice v vinogradih, je uporaba insekticidov za zatiranje znanega učinkovitega prenašalca fitoplazme FD med trtami (ameriškega škržatka) ter izkoreninjenje in uničevanje obolelih trt. Populacija ameriškega škržatka se v zadnjih letih povečuje tudi zaradi pomanjkanja učinkovitih insekticidov. Zato je vse bolj pomembno natančnejše napovedovanje roka za zatiranje z insekticidi in zgodnje odkrivanje okužb s fitoplazmami na trtah. Ena izmed možnih rešitev zgodnejšega odkrivanja okužb bi bila lahko na osnovi ugotavljanja prisotnosti fitoplazme v preimaginalnih stadijih ameriškega škržatka (v razvojnih stopnjah nimfe L3-L5, ki že lahko prenašajo fitoplazmo FD), kar pa nismo vedeli, če je tehnično izvedljivo.

Okužene trte na razmejenih območjih se iščejo z obsežnimi terenskimi pregledi. Učinkovitost terenskega nadzora omejujejo različni dejavniki, kot so obsežna preiskovalna območja, pomanjkanje usposobljenih fitosanitarnih preglednikov ter časovne in finančne omejitve. Predpogoj za uspešno obvladovanje zate trsne rumenice je natančno poznavanje

zdravstvenega stanja trt v vinogradu. Med terenskim pregledom na vsaki rastlini potrdimo prisotnost oziroma odsotnost bolezenskih znamenj. V primeru suma na okužbo odvzamemo vzorec in okužbo dokončno potrdimo z analizami v specializiranem laboratoriju. Odvisno od površine vinograda, je v vinogradu prisotnih nekaj sto do nekaj tisoč rastlin, ki morajo biti v rastni sezoni večkrat pregledane, kar je dolgotrajno in naporno delo. To potrjuje nujnost razvoja metod za zgodnjo zaznavo bolezni vinske trte, primernih za uporabo na večjih vinogradniških površinah.

Hiperspektralno slikanje omogoča določanje zdravstvenega stanja rastlin pred razvojem vidnih znakov. Ti sistemi uporabljajo vidni in bližnji infrardeči (400 - 1000 nm) ter kratkovalovni infrardeči (1000 - 2500 nm) svetlobni spekter, s čimer lahko zaznamo spremembe v strukturi in kemiji rastlinskih listov, še preden te spremembe vplivajo na fenologijo rastlin. S kombiniranjem hiperspektralnih podatkov z visoko ločljivostjo s prostorsko natančnimi podatki GNSS sprejemnika lahko razvijemo modele, ki omogočajo natančno določanje zdravstvenega stanja rastlin na večjih površinah. To omogoča pravočasno, ustrezno in prostorsko natančno izvajanje ukrepov za obvladovanje bolezni in lahko prepreči nadaljnje širjenje bolezni v vinogradu.

Na osnovi opaženih težav, s katerimi se stroka v zadnjih letih srečuje ob svojem rednem delu , smo si v projektu zastavili naslednje cilje: (i) preveriti možnost ugotavljanja fitoplazme FD, ki povzroča zlato trsno rumenico, v preimaginalnih stadijih glavnega prenašalca - ameriškega škržatka; (ii) razširiti znanje o drugih škržatkih - možnih prenašalcih fitoplazme FD in preveriti njihovo zastopanost v Sloveniji; (iii) ugotoviti okuženost drugih škržatkov - možnih prenašalcev te fitoplazme v vinogradih in v bližini vinogradov; (iv) ugotoviti bionomijo vzhodnjaškega škržatka, preveriti ali lahko prenaša fitoplazmo FD med leskami in na trto in preučiti možnosti zatiranja vzhodnjaškega škržatka z insekticidi na leskah; (v) ugotoviti pomen alternativnih gostiteljskih rastlin fitoplazme FD v bližini vinogradov, kot je npr. samonikla ali gojena leska, kot rezervoar za prenos te fitoplazme na trto; (vi) raziskati možnost daljinskega zaznavanja z metodo hiperspektralnega slikanja z letalom za zgodnje odkrivanje okužb zlate trsne rumenice.

Kratek povzetek ključnih ugotovitev iz literature

Trto (*Vitis*) lahko okuži vsaj 24 različnih fitoplazem, ki se uvrščajo v devet različnih 16Sr skupin (Dermastia in sod., 2017). V Evropi je najpomembnejša fitoplazma Grapevine flavescence dorée (fitoplazma FD), ki je iz skupine 16SrV in jo učinkovito med trtami prenaša ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus*) (Martini in sod., 2002). Fitoplazma FD je povzročiteljica neozdravljive bolezni trte imenovane zlata trsna rumenica. Fitoplazma FD pogosto povzroča epifitocije, saj je lahko veliko število vinogradov v neki regiji okuženih, delež prizadetih trt v vinogradu pa lahko doseže 95 % (Bressan in sod., 2006). Dokazano je, da se lahko okužba s fitoplazmo FD, če ni zadrževalnih ukrepov, širi s faktorjem 40 na leto (Prezelj in sod., 2013).

Na trti fitoplazma FD običajno povzroči naslednja bolezenska znamenja: zvijanje robov listov navznoter, rumenenje listov pri belih sortah oz. rdečenje pri rdečih sortah, venenje in sušenje grozdov. Bolezenska znamenja se začnejo pojavljati po cvetenju trte, proti jeseni se stopnjujejo in so najbolj vidna v drugi polovici avgusta ter v septembru. Trte ostanejo okužene celotno življenjsko dobo. Okužene trte propadejo v nekaj letih. (Dermastia in sod., 2017)

Bolezenska znamenja, ki nastanejo zaradi okužbe s fitoplazmo FD ne moremo razločevati od znamenj, ki jih povzročajo druge fitoplazme (in tudi nekateri virusi), ki za razliko od fitoplazme FD v Evropski uniji niso uvrščene na seznam karantensko škodljivih organizmov (Uredba EU 2021/2285). Za zanesljivo diagnostiko je zato potrebna analiza z molekularnimi testi (EPPO PM7/079(2)). Odkrivanje fitoplazem v vzorcih trt z molekularnimi testi je omejeno zaradi neenakomerne razporeditve fitoplazem v trti in tekom rastne sezone (Dermastia in sod., 2017), zato je za zanesljivo diagnostiko potrebna analiza listov z bolezenskimi znamenji, vzorčenimi v obdobju od julija do oktobra (EPPO PM7/079(2)). Alternativno lahko prisotnost fitoplazme FD na nekem območju preverimo z analizo vzorcev odraslih osebkov ameriškega škržatka ulovljenih v preiskovanem vinogradu (EPPO PM7/079(2)).

Trta je lahko okužena z različnimi izolati fitoplazem iz skupine 16SrV, tudi s takimi, ki jih ameriški škržatek ne more prenašati, kot je na primer Palatine grapevine yellows (PGY) fitoplazma (Maixner in sod., 2000). Ker z molekularnimi testi priporočenimi v EPPO PM7/079(2) lahko ugotovimo zgolj ali gre za okužbo s fitoplazmo iz skupine 16SrV ali ne, je v primeru najdbe na novih območjih in drugih gostiteljih nujno, da se izvede tudi karakterizacija izolatov fitoplazem skupine 16SrV (EPPO PM7/079(2)) na primer z analizo gena map (Malembic-Maher in sod., 2020), kar je podano tudi kot priporočilo EU referenčnega laboratorija (Mehle, 2020).

Izolate iz skupine 16SrV, ki so podobni ali enaki fitoplazmi, ki povzroča zlato trsno rumenico, smo v Sloveniji potrdili tudi v navadnem srobotu (*Clematis vitalba*) (Mehle in sod., 2011b), črni in sivi jelši (*Alnus glutinosa, A. incana*) in v velikem pajesnu (*Ailanthus altissima*) (Mehle in Dermastia, 2019). Okužene rastline srobota, jelše in velikega pajesna običajno ne kažejo znakov bolezni, zato v primeru, če rastejo v bližini vinogradov, lahko služijo kot rezervoar s katerega se lahko fitoplazma prenese na trto. Ugotovili so, da iz okuženega navadnega srobota na trto fitoplazmo lahko prenese navadni dolgoglavec (*Dictyophara europaea*), z okužene jelše na trto pa vzhodnjaški škržatek (*Orientus ishidae*) in jelšev škržatek (*Oncopsis alni*). Glede na novejše raziskave pa morda tudi škržatek *Allygus* spp. (Maixner in sod., 2000; Fillippin in sod., 2009; Dermastia in sod., 2017; Malembic-Maher in sod., 2020). Navadni dolgoglavec, vzhodnjaški škržatek in najverjetneje tudi *Allygus* spp. iz srobota oziroma jelše na trto prenesejo izolate, ki jih potem med trtami lahko raznaša ameriški škržatek (Malembic-Maher in sod., 2020). Jelšev škržatek pa na trto lahko zanese le izolate fitoplazme iz skupine 16SrV, ki jih ameriški škržatek ne more prenašati (Malembic-Maher in sod., 2020). Vloga drugih

možnih prenašalcev fitoplazme FD, oziroma možnost prenosa fitoplazme FD iz drugih gostiteljskih rastlin na trto pa ni bila dobro raziskana.

Fitoplazme iz skupine 16SrV so bile odkrite tudi v leskah (*Corylus avellana*). V Švici na primer v samoniklih leskah brez bolezenskih znakov, ki so rastle v bližini vinograda okuženega z zlato trsno rumenico (Casati in sod., 2017), v Sloveniji pa v propadajočih gojenih leskah v nasadih iz različnih delov Slovenije (Mehle in sod., 2019). Samonikle lesk v Sloveniji pred pričetkom tega projekta še niso bile analizirane na prisotnost fitoplazem. V okviru ARIS projekta NanoPhyto (L7-2632) in Euphresco projekta Flado-Vigilant (2020-A-344) smo ugotovili, da so gojene leske okužene tudi z izolati, ki bi jih ameriški škržatek lahko prenašal, ter da so ti izolati fitoplazem prisotni tudi v osebkih vzhodnjaškega škržatka ulovljenih v nasadih okuženih lesk ali v neposredni bližini le-teh.

Vzhodnjaški škržatek je polifag, ki se je od prve najdbe leta 2004 razširil po celotni Sloveniji. Opozorilo, da gre morda za prenašalca fitoplazme FD smo podali prvi in sicer že leta 2011 (Mehle in sod., 2011a). Od tega opozorila dalje so sledila številna odkritja okuženih osebkov s fitoplazmo FD iz drugih držav, sum, da je možen prenašalec fitoplazme FD iz lesk na trto, pa so prvi podali Casati in sod. (2017). Ugotovljeno je že bilo, da vzhodnjaški škržatek lahko fitoplazmo FD naključno zanese iz jelš na trto (Dermastia in sod., 2017; Malembic-Maher in sod., 2020), vendar dokazov da lahko vzhodnjaški škržatek prenaša fitoplazmo FD tudi med leskami in iz lesk na trto,ni bilo. Poleg tega je bilo o biologiji vzhodnjaškega škržatka le malo znano (Parise, 2017). V Sloveniji, kjer najdemo raznolike klimatske pogoje, bionomija vzhodnjaškega škržatka in možnost za obvladovanje njegovih populacij (možnega krivca za širjenje bolezni v nasadih lesk in morda tudi za vnos fitoplazme FD v vinograd), pred pričetkom tega projekta nista bili proučevani.

Hiperspektralni senzorji razdelijo svetlobni spekter na ozke pasove s praviloma konstantno širino manjšo od 10 nm. Čeprav lahko uporabljamo široko- in ozkopasovne indekse (Marshall in sod., 2016), so za analizo velike količine spektralnih podatkov bolj primerne metode strojnega učenja, kot so nevronske mreže. Za določanje rastlinskih bolezni so uspešno uporabili številne metode strojnega učenja; nadzorovane in nenadzorovane, samoorganizirajoče mape ter metodo podpornih vektorjev (Camargo in Smith, 2009; Moshou in sod., 2004; Rumpf in sod., 2010). Kljub uspešni uporabi številnih metod strojnega učenja za določanje zdravstvenega stanja rastlin, se nobena izmed njih ni izkazala za absolutno boljšo od vseh ostalih (Behmann in sod., 2014). Hiperspektralno slikanje postaja vse pogostejša metoda za odkrivanje stanja rastlin, saj omogoča ne le določanje biotskega in abiotskega stresa, temveč tudi kemometrične analize, določanje relevantnih valovnih dolžin, kot tudi zgodnje (t.j. pred pojavim vidnih znakov) odkrivanje bolezni (Susič in sod., 2018; 2020; Zovko in sod., 2019; Žibrat in sod., 2021). V raziskavah daljinskega zaznavanja bolezni vinske trte, kot sta zlata trsna rumenica in kap vinske trte (ESCA) (Di Gennaro in sod., 2016; Albetis in sod., 2019), je bilo multispektralno slikanje z brezpilotnimi letalniki le delno uspešno. Podobne rezultate smo dosegli z uporabo multispektralnih satelitskih posnetkov v okviru projekta CRP V4-1103 (Žibrat in Knapič, 2023). V tej raziskavi smo pokazali, da sta razmeroma slaba prostorska in spektralna ločljivost glavni hibi satelitskih posnetkov, saj privedeta do mešanih spektralnih podpisov, kar oslabi napovedno moč razvitih klasifikacijskih modelov. Letalsko hiperspektralno slikanje nima teh omejitev, oziroma je njihov vpliv izrazito manjši. Omejitve senzorjev lahko dodatno omilimo s slikanjem v časovni vrsti, s čimer dobimo več informacij o fenološkem razvoju rastlin in pojavu bolezni, r posledično je omogočeno zgodnje zaznavanje (Susič in sod., 2018) v celotnih vinogradih. Čeprav je bilo razvitih nekaj metod hiperspektralnega slikanja za določanje okužb trte z zlato trsno rumenico (Bendel in sod., 2020a), z virusi zvijanja listov vinske trte GLRaV-1 in GLRaV-3 (Bendel in sod., 2020b) in kapjo vinske trte (Bendel in sod., 2020c), so bile te raziskave omejene na poskuse v rastlinjaku ali manjše poskuse na prostem. Prav tako vse niso zajele podatkov v časovni vrsti (med leti ali v

rastni sezoni). Bendel in sod. (2020c) so za hiperspektralno slikanje uporabili posebno terensko platformo za fenotipizacijo, ki je omogočala standardizirane pogoje slikanja, a ob omejeni hitrost zajema slik, zelo omejena pa je tudi uporabnost v manjših vinogradih. Čeprav so bile razvite metode razmeroma uspešne, niso omogočale oziroma niso preizkušale hiperspektralnega slikanja za zgodnje odkrivanje teh bolezni.

Viri:

Albetis, J. in sod. (2019) Remote Sens 11(1), 23

Behmann, J. in sod. (2014) Precis Agric 16, 239-260

Bendel, N. in sod. (2020a) Remote Sens 12(24), 4151

Bendel, N. in sod. (2020b) Remote Sens 12(10), 1693

Bendel, N. in sod. (2020c) Plant methods 16, 142

Bressan, A. in sod. (2006) Entomol Exp Appl 119, 61-69

Camargo, A., Smith, J.S. (2009) Comput Electron Agric 66, 121-125

Dermastia, M. in sod. (2017) Springer, 99 str.

Casati, P. in sod. (2017) Ann Appl Biology 17(1), 37-51

Di Gennaro, S.F. in sod. (2016) Phytopathol Mediterr 55(2), 262-275

EPPO PM7/079(2) (2016) EPPO Bulletin 46, 78-93

Marshall, M. in sod. (2016) Agric For Meteorol 122-134

Fillippin, L. in sod. (2009) Plant Pathol 58(5), 826-837

Malembic-Maher, S. in sod. (2020) Plos Pathogens 16(3), e1007967

Maixner, M. in sod. (2000) Vitis 39(2), 83-84

Martini, M. in sod. (2002) Mol Cell Probes 16(3), 197-208

Mehle, N. in sod. (2011a) New Disease Rep 22, 11

Mehle, N. in sod. (2011b) Phytopathogenic mollicutes (1), 65-76

Mehle, N. in sod. (2019) Eur J Plant Pathol 155, 1117-1132

Mehle, N., Dermastia, M. (2019) Phytopathogenic mollicutes 9(1), 49-50

Mehle, N. (2020) EURL-Virology spletna stran, https://eurlplanthealth.nl/

Moshou, D. in sod. (2004) Comput Electron Agric 44, 173-188

Parise, G. (2017) Cicadina 17, 19-28

Prezelj, N. in sod. (2013) Plant Pathol 62, 760-766

Rumpf, T. in sod. (2010) Comput Electron Agric 74, 91-99

Susič, N. in sod. (2018) Sens Actuators B Chem 273, 842-852

Susič, N. in sod. (2020) Plants 9(5), 592

Zovko, M. in sod. (2019) Precis Agric 20(2), 335-347

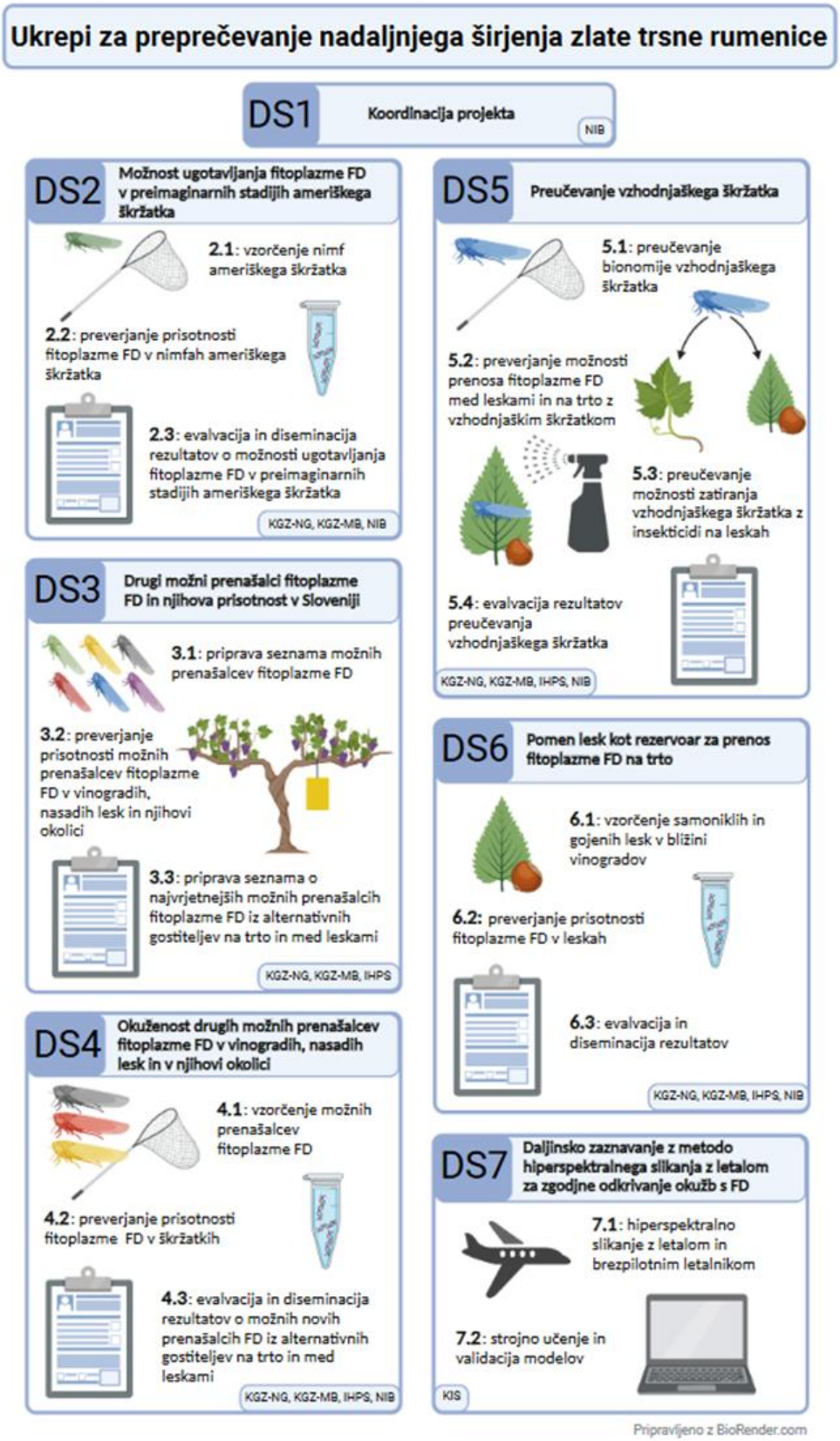
Žibrat, U., Knapič, M. (2023) Remote Sens in Prec Agric, Elsevier, 367-386

Žibrat, U. in sod. (2021) Remote Sens 13(10), 1996

Uporabljena metoda dela

Projektno delo je bilo organizirano v obliki delovnih sklopov (DS) glede na vsebino in cilje raziskave (Slika 1; namen in opisi raziskav za posamezne DS so podani v nadaljevanju).

V projektu so sodelovali partnerji iz Nacionalnega inštituta za biologijo (NIB), Kmetijsko gozdarskega zavoda Nova Gorica (KGZ-NG), Kmetijsko gozdarskega zavoda Maribor (KGZ-MB), Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) in Kmetijskega inštituta Slovenije (KIS). NIB, ki je bil koordinator projekta, ima veliko izkušenj z raziskavami s področja biologije in epidemiologije fitoplazem ter obsežne izkušnje glede detekcije in identifikacije fitoplazem v rastlinah in žuželčjih prenašalcih. V okviru NIB-a deluje tudi laboratorij, ki je nacionalni referenčni laboratorij za fitoplazme ter partner konzorcijskega referenčnega laboratorija Evropske unije za škodljive organizme rastlin, kot so fitoplazme. Partnerji iz KGZ-NG, KGZ-MB in IHPS imajo odlično poznavanje problematike fitoplazem in njenih prenašalcev na terenu (tako v vinogradih, kot tudi v nasadih lesk), izkušnje s področja proučevanje bionomije prenašalcev in zatiranja z insekticidi. Poleg tega ima KGZ-NG dolgoletne izkušnje na področju entomologije, morfološke diagnostike žuželk in tudi na področju raziskav. KIS pa ima veliko znanja s področja obdelave hiperspektralnih slik za namen daljinskega zaznavanja okužb rastlin na terenu.



Slika 1: Povzetek strukture projekta s podanimi delovnimi sklopi (DS) in nalogami ter vključenimi partnerji. NIB, Nacionalni inštitut za biologijo; KGZ-NG, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica; KGZ-MB, Kmetijsko gozdarski zavod Maribor; IHPS, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije; KIS, Kmetijski inštitut Slovenije.

DS1 Koordinacija

V okviru tega DS je potekala koordinacija aktivnosti partnerjev ter redno poročanje o poteku dela in doseženih rezultatih financerjem/ naročnikom. Vzpostavljena je bila tudi spletna stran projekta.

DS2 Možnost ugotavljanja Grapevine flavescence dorée fitoplazme (FD) v preimaginalnih stadijih ameriškega škržatka (Scaphoideus titanus Ball)

Ozadje namena raziskave

Ličinke ameriškega škržatka se začnejo izlegati v drugi dekadi maja in se nato v petih razvojnih stopnjah (ličinke: L1 in L2; nimfe: L3, L4 in L5) razvijejo v odrasle škržatke. Fitoplazmo lahko prenašajo že nimfe tretje razvojne stopnje (L3), najbolj učinkoviti prenašalci pa so odrasli ameriški škržatki, ki se običajno pojavijo v začetku julija. Pojav nimf L3 običajno sovpada s koncem cvetenja trte, L4 z začetkom razvoja plodičev in L5 s pričetkom rasti jagod na grozdju.

Prva bolezenska znamenja okužbe s fitoplazmo FD na trti lahko sicer opazimo že po cvetenju trte, a so pogosto takrat znamenja še slabo vidna in posledično jih zato lahko spregledamo. Poleg tegana podlagi vizualnih bolezenskih znamenj ne moremo razločevati ali gre za okužbo z zlato trsno rumenico ali za okužbo z drugimi (nekarantenskimi) fitoplazmami ali virusi, zato je nujna laboratorijska analiza. Ugotavljanje prisotnosti fitoplazem v trti je težko, saj so fitoplazme v rastlini neenakomerno razporejene, njihova koncentracija je nizka in različna v različnih letnih časih. Na podlagi vseh navedenih dejstev, je v skladu s standardom EPPO PM7/079(2), za zanesljivo detekcijo fitoplazem priporočeno vzorčenje simptomatičnih poganjkov v obdobju od julija do oktobra, kar pomeni, da njeno prisotnost morda ugotovimo šele, ko se je ta v nasadu s pomočjo učinkovitega prenašalca – ameriškega škržatka že močno razširila.

Prisotnost fitoplazme v vinogradu lahko posredno spremljamo tudi s preverjanjem prisotnosti fitoplazme v ameriškem škržatku. Na podlagi izkušenj vemo, da lahko z molekularnimi testi, ki so priporočeni v EPPO PM7/079(2), prisotnost fitoplazme FD odkrijemo v odraslih osebkih ameriškega škržatka. V primeru, da bi fitoplazmo FD lahko zaznali že v preimaginalnih razvojnih stopnjah L3-L5, bi to pomenilo, da obstaja možnost zanesljivejšega zgodnjega odkrivanja okužb vinogradov s fitoplazmo FD (še pred pojavom značilnih vizualnih bolezenskih znamenj) in ustreznega ukrepanja (še preden se bolezen FD v vinogradu razširi). Ker podatkov o možnosti zaznave fitoplazme FD v preimaginalnih razvojnih stopnjah L3-L5 nismo imeli, smo v okviru DS2 preverili to možnost.

Postopek izvedbe raziskave

Z namenom, da preverimo možnost ugotavljanja fitoplazme FD v preimaginalnih stadijih ameriškega škržatka, smo v vinogradih iz območja, kjer je bila potrjena okužba z zlato trsno rumenico, vzorčili nimfe ameriškega škržatka L3, L4 in L5. Nimfe smo vzorčili v osmih različnih vinogradih s potrjeno okužbo s fitoplazmo FD (1x Z Slovenija in 7x SV Slovenija). Nimfe smo vzorčili povečini od druge polovice junija do prve polovice julija, v dveh zaporednih rastnih sezonah (2023 in 2024). Vzorce nimf smo nabrali s pomočjo entomološke mreže in entomološkim sesalcem. Nimfe smo takoj po ulovu dali v 70 % etanol. Nimfe iste razvojne stopnje, ulovljene v istem časovnem obdobju in na isti lokaciji, smo združili v en vzorec.

V laboratoriju smo iz vzorcev nimf sprali etanol in pripravili podvzorce z 1-10 nimfami iste razvojne stopnje. Podvzorce nimf smo homogenizirali, iz homogenata izolirali celokupno DNA in jo analizirali s PCR v realnem času na prisotnost fitoplazem iz skupine 16SrV. Molekularna metoda določanja fitoplazem iz skupine 16SrV, ki je bila uporabljena, je v skladu z EPPO PM7/079(2).

DS3 Drugi možni prenašalci fitoplazme FD in njihova prisotnost v Sloveniji

Ozadje namena raziskave

Glavni žuželčji prenašalec fitoplazme FD med trtami je ameriški škržatek, ki s sesanjem iz listnih žil okuženih trt fitoplazmo sprejme z rastlinskim sokom in jo prenese na neokužene trte. Ko se škržatek okuži, ostane kužen celotno življenjsko dobo. Ameriški škržatek živi predvsem na trti. Po podatkih iz literaturelahko navadni dolgoglavec (*Dictyophara europaea*) prenese fitoplazmo iz okuženega navadnega srobota (*Clematis vitalba*) na trto. Z okužene jelše na trto pa jo lahko preneseta vzhodnjaški škržatek (*Orientus ishidae*) in jelšev škržatek (*Oncopsis alni*), glede na najnovejše raziskave pa morda tudi škržatek *Allygus* spp. (Malembic-Maher in sod., Plos Pathogens 2020, 16(3), e1007967). Vzhodnjaški škržatek je bil izpostavljen tudi kot možen prenašalec fitoplazme FD iz leske na trto (Casati in sod., Ann Appl Biology 2017, 17(1), 37-51), v Sloveniji pa tudi kot možen prenašalec te fitoplazme med gojenimi leskami (*Corylus avellana*) (Mehle in Dermastia, Phytopathogenic mollicutes 2019, 9(1), 49-50). V Sloveniji do sedaj niso bile izvedene zadostne raziskave v smeri preverjanja drugih možnih prenašalcih fitoplazme FD, ki bi bili lahko pri nas pomembni pri prenosu fitoplazme FD v vinograde in znotraj nasadov lesk. Zato smo v tem DS želeli razširiti znanje o možnih prenašalcih fitoplazme FD, ki so prisotni v Sloveniji in sicer z izvedbo popisa ter z zbiranjem informacij o njihovi zastopanosti v vinogradih, nasadih lesk in v njihovi neposredni okolici.

Postopek izvedbe raziskave

Na podlagi podatkov iz literature in predvsem na podlagi poznavanja njihovih vedenjskih in prehranjevalnih navad smo pripravili seznam škržatkov, ki bi poleg že omenjenih škržatkov, bili možni prenašalci fitoplazme FD med različnimi gostiteljskimi rastlinami. V seznam smo vključili tudi ključne informacije, kot so na primer znani podatki o gostiteljskih rastlinah in njihova razširjenost v Sloveniji (vključno z informacijami o morebitnih znanih podatkih glede prisotnosti v Sloveniji).

Z namenom ugotavljanja razširjenosti in zastopanosti možnih prenašalcev FD fitoplazme, je bilo nato v letu 2023 izvedeno sistematično spremljanje škržatkov na štirih reprezentativnih lokacijah po Sloveniji, kjer so bili vinogradi v neposredni bližini nasadov ali večjih sestojev leske: Šempas, Lekmarje, Ilovci, Litmerk. V izbrane nasade leske in vinograde ter v mejice na robu le-teh smo namestili po tri rumene lepljive plošče (RLP), ki smo jih menjavali vsakih 14 dni, v obdobju od konca maja do začetka septembra. V entomološkem laboratoriju je bila izvedena identifikacija vseh škržatkov, ki so se ulovili na RLP. Skupno smo pregledali 330 RLP. Pri vrstah, ki so bile v raziskavi opredeljene kot možni prenašalci fitoplazem, je bilo izvedeno tudi štetje osebkov.

DS4 Okuženost drugih možnih prenašalcev fitoplazme FD v vinogradih, nasadih lesk in v njihovi okolici

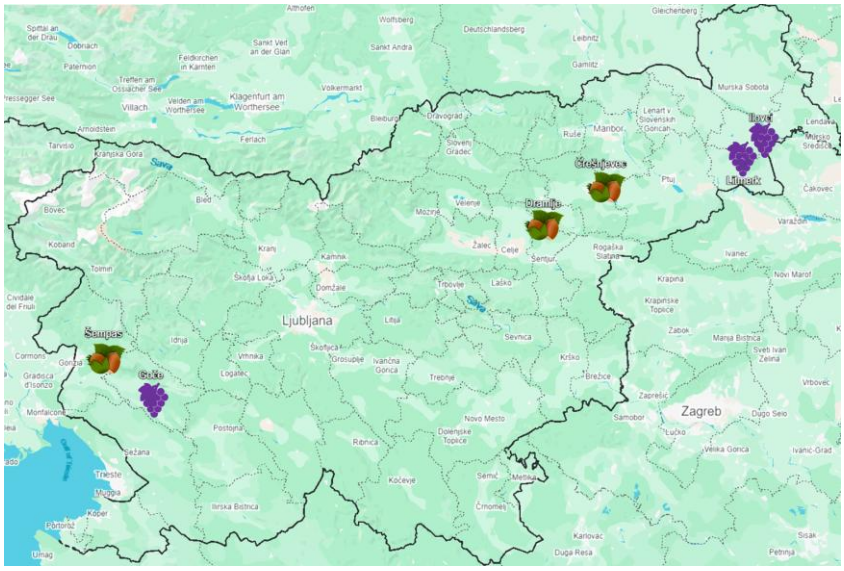
Ozadje in namen raziskave

Namen te raziskave je bil preveriti okuženost različnih vrst škržatkov – možnih prenašalcev fitoplazme FD identificiranih v DS3 – v vinogradih, nasadih lesk in njihovi okolici, ter na podlagi teh rezultatov oceniti njihovo vlogo pri prenosu fitoplazme FD iz alternativnih gostiteljev na trto in med leskami.

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 2). 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 (na podlagi rezultatov DS3). Vzorce škržatkov smo zbirali v entomološkem laboratoriju, kjer smo opravili morfološko analizo in identificirali vrste. Identificirane možne prenašalce FD smo ločili v podvzorce po vrsti, lokaciji in času ulova.

V laboratoriju smo iz vzorcev škržatkov sprali etanol, pripravili podvzorce z 1–10 osebki, 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 PM7/079(2)). 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. (Frontiers in plant science 2023: 14:1217425).



Slika 2: 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 škržatkov je potekalo na teh lokacijah in v njihovi neposredni bližini.

DS5 Proučevanje vzhodnjaškega škratka (Orientus ishidae)

Ozadje in namen raziskave

Vzhodnjaški škržatek je polifagna tujerodna žuželčja vrsta v Sloveniji, ki izvira iz vzhodne Azije, predvsem iz Japonske, Koreje in vzhodnih delov Kitajske. V Sloveniji je prisoten že nekaj časa, vendar do sedaj nismo sistematično spremljali njegove bionomije. Posledično imamo premalo podatkov, da bi lahko načrtovali zatiranje tega škodljivca, za katerega je že znano, da prenaša fitoplazme iz skupine 16SrV med jelšami ter da iz jelš na trto lahko naključno zanese tudi izolate, ki jih potem ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus*) lahko raznese med trtami, kar lahko vodi do pojava epifitocij v vinogradu.

Na podlagi rezultatov strokovnjakov iz Švice in podatkov, ki smo jih pridobili v okviru Euphresco projekta Flado-Vigilant (2020-A-344) ter v okviru ARIS projekta NanoPhyto (L7-2632) sumimo, da je vzhodnjaški škržatek tudi pomemben prenašalec fitoplazem iz skupine 16SrV med leskami in zelo verjetno fitoplazmo FD lahko tudi naključno zanese iz lesk na trto, kar pa je seveda potrebno še preveriti. Ker je glede na do sedaj znane podatke vzhodnjaški škržatek najverjetnejši in verjetno najpomembnejši prenašalec fitoplazem iz skupine 16SrV med leskami, je bilo smiselno proučiti tudi možnost njegovega zatiranja v nasadih lesk., To bi v primeru potrditve navedene domneve pripomoglo k omejevanju širjenja okužb v nasadih lesk in posledične škode, ki jo te fitoplazme povzročajo.

V okviru raziskav smo želeli pridobili podatke o bionomiji vzhodnjaškega škržatka, preveriti hipotezo, da prenaša vzhodnjaški škržatek fitoplazmo 16SrV med leskami in iz lesk na trto, in preveriti možnost njegovega zatiranja z insekticidi v nasadih lesk.

Postopek izvedbe raziskave

Proučevanje bionomije vzhodnjaškega škržatka

Na podlagi literature smo pripravili pregled podatkov o bionomiji vzhodnjaškega škržatka, ki je bil osnova za načrtovanje nadaljnjih raziskav:

- Vizualno spremljanje pojava preimaginalnih stadijev ličink vzhodnjaškega škržatka in ugotavljanje dolžine posameznih razvojnih stopenj ličink (L1-L5): Na treh opazovanih lokacijah (Brje – Z Slovenija, Savci – SV Slovenija in Kasaze pri Petrovčah – osrednja Slovenija) smo v letu 2024 v ekoloških nasadih jablan enkrat tedensko vizualno pregledovali minimalno 250 naključno izbranih listov gostiteljske rastline - jablane. Namen spremljanja je bilo ugotoviti število in delež posameznih stopenj ličink vzhodnjaškega škržatka (L1-L5). S spremljanjem smo pričeli v sredini maja, vizualna tedenska spremljanja smo izvajali do sredine avgusta 2024.
- Spremljanje odraslih osebkov vzhodnjaškega škržatka z rumenimi lepljivimi ploščami: Na vseh zgoraj omenjenih opazovanih lokacijah smo nadaljevali s spremljanjem odraslih osebkov vzhodnjaškega škržatka, katerega smo spremljali z rumenimi lepljivimi ploščami proizvajalca Unichem. Na vsako opazovano lokacijo, jablanov nasad, smo postavili 3 oziroma 5 rumenih lepljivih plošč (RLP), razdalja med njimi je bila 20 m. RLP smo izobesili na jablane na višino okoli 1,3-1,5 m od tal. Spremljanje smo izvajali od sredine meseca maja do sredine oktobra 2024. RLP smo pregledali in zamenjali v tedenskih do 14 dnevnih intervalih.

Preverjanje možnosti prenosa fitoplazme FD med leskami in na trto z vzhodnjaškim škržatkom

Pripravili smo tri mrežnike, ki so preprečevali vstop in izstop škržatkov. V en mrežnik smo posadili trte sorte ‘ Chardonnay’, v drug mrežnik leske sorta´Istrska dolgoplodna’, v tretji mrežnik, ki je služil kot negativna kontrola, pa leske in trte skupaj. Vse posajene trte in leske smo pred pričetkom poskusa preverili z laboratorijskimi testi izvedenimi v skladu z EPPO PM7/079(2) in EPPO PM7/133(1) , da so bile proste fitoplazem.

Odrasle osebke vzhodnjaškega škržatka smo leta 2023 in 2024 lovili v neposredni okolici s 16SrV fitoplazmami okuženih nasadov. Gre za nasade, kjer smo že v okviru projekta Euphresco Flado-Vigilant (2020-A-344) dokazali, da je del populacije vzhodnjaškega škržatka okužen s fitoplazmami iz te skupine. Ulovljene osebke smo žive prenesli v mrežnik s trto in v mrežnik z leskami. V oba mrežnika smo vnesli vse osebke, ulovljene v obeh rastnih sezonah (2023 in 2024). Ob koncu prve in druge rastne sezone smo trte in leske iz mrežnikov- vključno z rastlinami iz mrežnika, ki je služil kot negativna kontrola, analizirali na prisotnost fitoplazem.

Z vnosom škržatkov v mrežnika in s preverjanjem zdravstvenega stanja rastlin posajenih v teh mrežnikih smo nadaljevali tudi v letu 2025 in sicer v okviru strokovne naloge s področja zdravstvenega varstva rastlin.

Proučevanje možnosti zatiranja vzhodnjaškega škržatka z insekticidi na leskah

Na podlagi podatkov iz literature ter izkušenj iz tujine, smo pripravili seznam insekticidov, ki bi bili primerni za zatiranje vzhodnjaškega škržatka in za uporabo v nasadih leske. Pri tem smo se osredotočili na insekticidne aktivne snovi, ki so že dovoljene na leskah za zatiranje lešnikarja in glede na njihov način delovanja ocenili, ali lahko pričakujemo učinek tudi pri vzhodnjaškemu škržatku, upoštevajoč njegovo bionomijo.. Preverili smo tudi dostopne sezname razpoložljivih aktivnih snovi v Evropi, ki bi glede na način delovanja lahko vplivale na zmanjšanje populacije oziroma zatiranje vzhodnjaškega škržatka. Ppri tem smo upoštevali tudi morebitne omejitve pri uporabi teh snovi na leskah v Sloveniji.

DS6 Pomen lesk kot rezervoar za prenos FD na trto

Ozadje namena raziskave

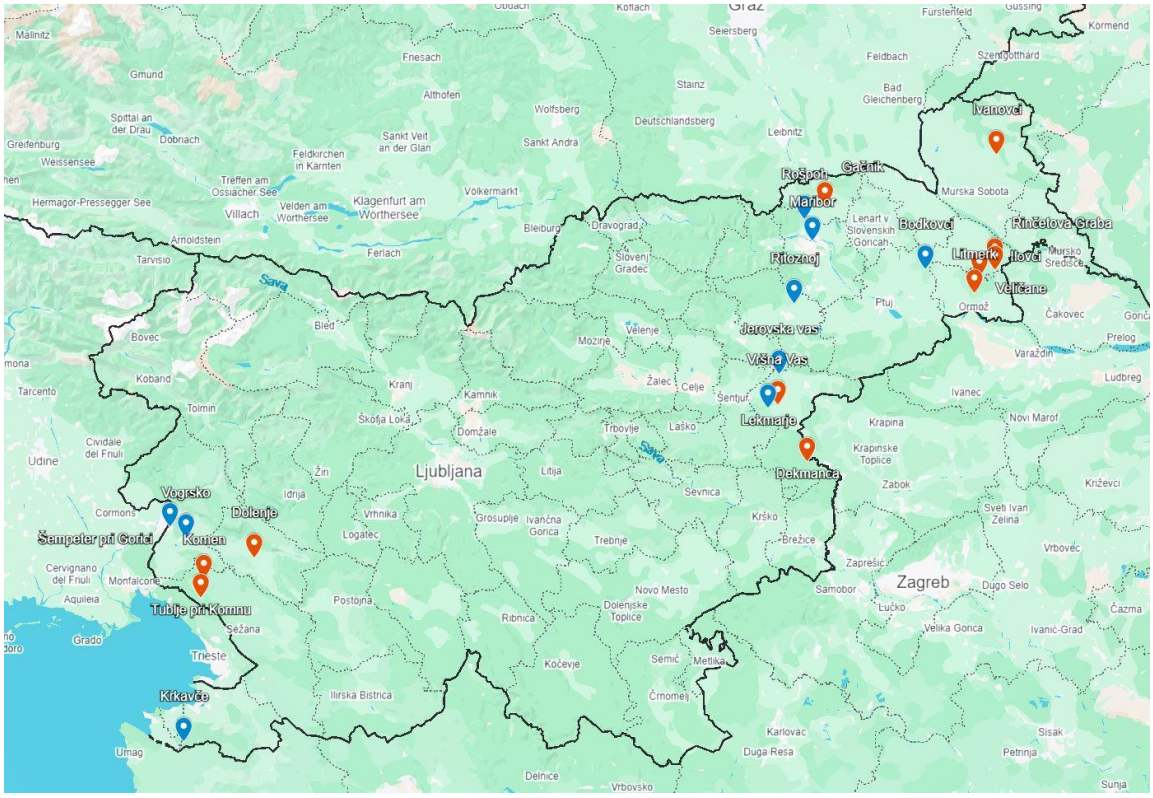
V Sloveniji so bile fitoplazme iz skupine 16SrV prvič potrjene v leskah leta 2017, ko so bile v intenzivnih nasadih v Slovenski Bistrici opažene poškodbe v obliki sušenja vej, rumenenja listov in propadanja celih grmov. Molekularne analize so pokazale prisotnost fitoplazem tipa FD-D in FD70, ki sta znana povzročitelja FD na vinski trti (Mehle in sod., European journal of plant pathology 2019: 155(4):1117-1132). Nadaljnje raziskave (Kogej Zwitter in sod., Frontiers in plant science 2023: 14:1217425) so potrdile, da so nekatere genotipske različice fitoplazem (npr. M38, M50, M122) prisotne tako v leskah kot v trti, kar nakazuje na možnost prenosa med tema dvema gostiteljema.

Poleg tega je bil v Sloveniji in drugod po Evropi opažen porast populacij vzhodnjaškega škržatka (*Orientus ishidae*), ki je polifagna vrsta in se pogosto pojavlja v nasadih lesk. V več primerih je bil ta škržatek pozitiven na fitoplazme iz skupine 16SrV, vključno z genotipi, ki so bili najdeni tudi v trti in leski. To kaže na njegovo možno vlogo prenašalca fitoplazem med različnimi gostitelji.

V okviru naloge DS6 smo prvič sistematično vzorčili tako gojene kot samonikle leske, ki rastejo v bližini vinogradov – tako tam, kjer je bila prisotnost FD že potrjena, kot tudi tam, kjer še ni bila. Namen raziskave je bil preveriti, ali so leske okužene s fitoplazmo FD in ali gre za enake genotipe kot pri okužbah vinske trte. S tem pristopom smo želeli bolje razumeti, kakšno vlogo imajo leske pri širjenju bolezni in ali lahko predstavljajo vir okužbe za trto.

Postopek izvedbe raziskave

V letih 2023 in 2024 smo izvedli obsežno terensko in laboratorijsko raziskavo, s katero smo želeli preveriti prisotnost fitoplazme FD v leskah, ki rastejo v bližini vinogradov, ter oceniti njihovo morebitno vlogo kot rezervoar okužbe. Vzorčenje je potekalo na 20 različnih lokacijah v severovzhodni in zahodni Sloveniji (Slika 3). Izbrali smo lokacije v neposredni bližini vinogradov, kjer je bila prisotnost FD že potrjena, pa tudi lokacije, kjer okužba še ni bila potrjena. Vzorce smo zbirali v dveh rastnih sezonah, pri čemer smo vključili tako gojene kot samonikle leske, kar predstavlja pomembno nadgradnjo preteklih raziskav. Vzorci so vključevali poganjke in korenine, odvzete z različnih delov rastlin. V laboratoriju smo iz listnih žil in floema korenin izolirali celokupno DNA, ki smo jo analizirali s PCR v realnem času na prisotnost fitoplazem iz skupine 16SrV. V primeru pozitivnih rezultatov smo poskušali določiti tudi genotip fitoplazme z analizo gena map. Poleg tega smo vzorce analizirali tudi na prisotnost drugih fitoplazem.



Slika 3: Lokacije vzorčenja lesk. Z modro so prikazane lokacije vzorčenja lesk, ki so v bližini vinogradov s še ne potrjeno okužbo na fitoplazmo FD; z rdečo pa so prikazane lokacije vzorčenja lesk, ki so v bližini vinograda s potrjeno okužbo na fitoplazmo FD.

DS7 Daljinsko zaznavanje z metodo hiperspektralnega slikanja z letalom za zgodnje odkrivanje okužb z FD

Ozadje namena raziskave

Namen tega DS je bil razvoj klasifikacijskih modelov za prepoznavanje rastlin okuženih z FD, z uporabo letalskega hiperspektralnega slikanja v časovni vrsti. Zajem podatkov v časovni vrsti je namreč pogoj za razvoj metod za zgodnje odkrivanje okužb, torej pred pojavom vidnih znakov.

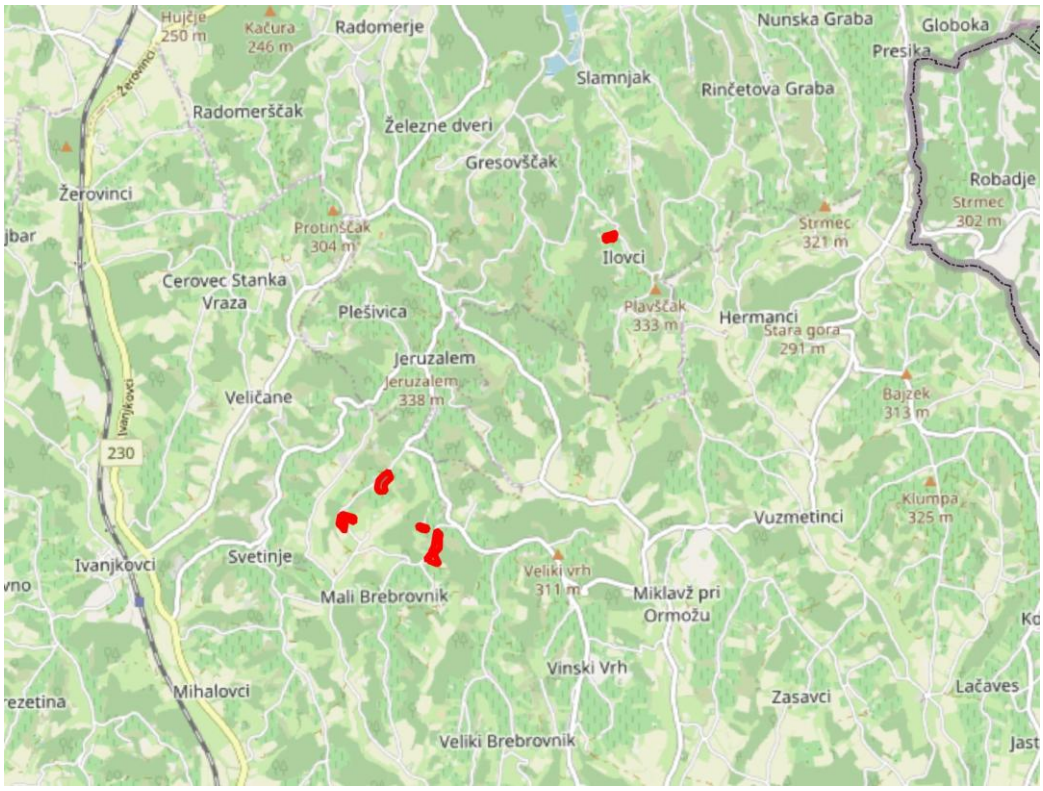
Doslej razvite metode za določanje okužb z FD na vinski trti so bile osredotočene na samo enkratni zajem podatkov, ko so bili znaki okužb najbolje razviti. Omejitve uporabe multispektralnega slikanja za določanje zdravstvenega stanja rastlin so bile predhodno prikazane v okviru projekta CRP V4-1103. Rezultati raziskave projekta CRP V4-1103 so kazali na pomembnost visoke spektralne in prostorske ločljivosti ter vpliv rastrskih celic z mešanimi spektralnimi podpisi. Čeprav je bilo hiperspektralno slikanje uspešno uporabljeno za določanje okužb z FD, so bile te raziskave omejene na rastlinjake ali manjše poskuse v vinogradih. Tovrstni modeli imajo zato omejeno uporabnost na večjih površinah, na primer posameznih vinogradih. Z uporabo letalskega hiperspektralnega slikanja v časovni vrsti na več vinogradih pa smo želeli pridobiti prostorsko in spektralno natančne podatke velikega števila rastlin. Z združevanjem spektralnih podatkov in rezultatov popisa zdravstvenega stanja rastlin iz programa strokovnih nalog smo želeli razviti zanesljive klasifikacijske modele, s ciljem, da bo v prihodnje možno pravočasno in usmerjeno ukrepanje na večjih vinogradiških površinah.

Postopek izvedbe raziskave

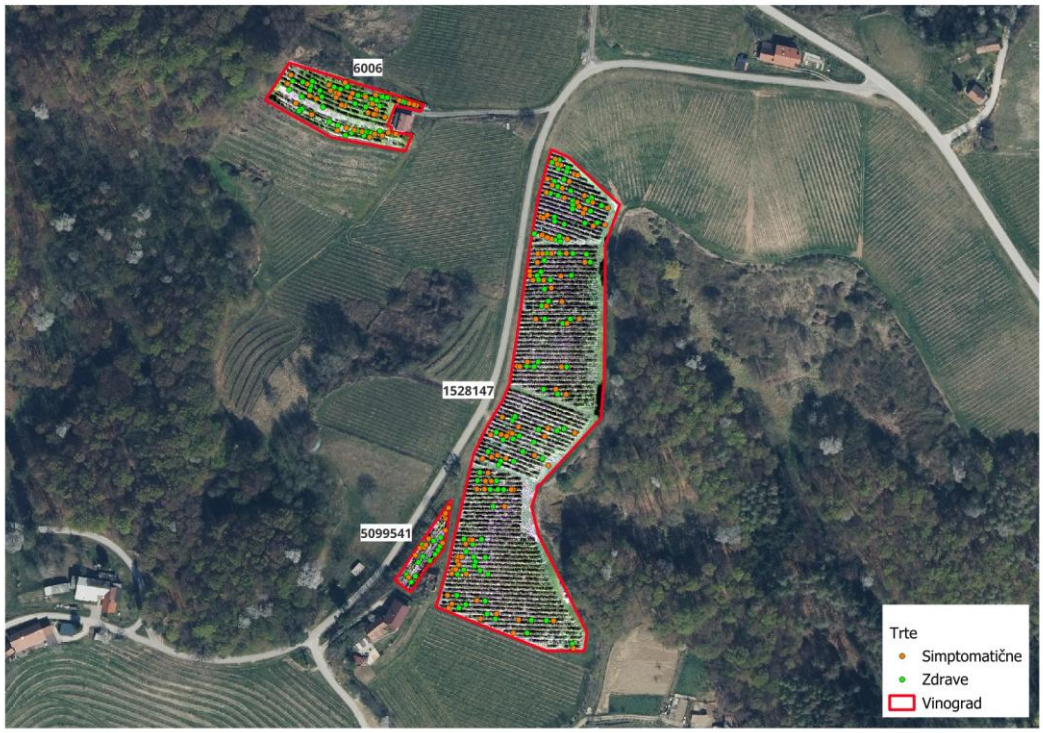
Hiperspekralno slikanje z letalom in brezpilotnim letalnikom

Izbor vinogradov:

Izbor vinogradov je bil opravljen na območju Jeruzalemsko-Ormoških goric, kjer je bil v zadnjih letih zaznan porast okužb z zlato trsno rumenico (Slika 4). Na podlagi strokovnih priporočil in pregleda terena smo izbrali sedem vinogradov z razmeroma visokim deležem simptomatičnih trt. V posameznem vinogradu smo vsako jesen izvedli vizualno oceno stanja in z visokonatančnim GNSS sistemom (Stonex S9i, Stonex, Italija) evidentirali koordinate trt z značilnimi simptomi okužbe (zvijanje in rumenenje oz. rdečenje listov, krhkost listne ploskve ipd.), hkrati pa določili tudi koordinate primerljivega števila vizualno zdravih trt (Slika 5).



Slika 4: Izbrani vinogradi za hiperspektralno likanje



Slika 5: Primer označenih simptomatičnih in zdravih rastlin v treh izbranih vinogradih za hiperspektralno slikanje v letu 2024

Letalsko slikanje:

Z namenom zgodnjega zaznavanja okužb z FD smo v dveh rastnih sezonah izvedli snemanje z letalom, opremljenim s hiperspektralnim snemalnim sistemom (Hyspex VNIR-1600 in SWIR-384, Norsk Elektro Optikk AS, Norveška). Tak pristop omogoča zajem večjih površin v krajšem času v primerjavi z brezpilotnimi letalniki ali zgolj vizualnim ocenjevanjem.

Prelete smo izvedli dvakrat v rastni sezoni:

- prvič v juniju oziroma juliju, ko vizualni simptomi okužbe še niso izraženi,
- drugič v septembru, ko so simptomi že dobro vidni.

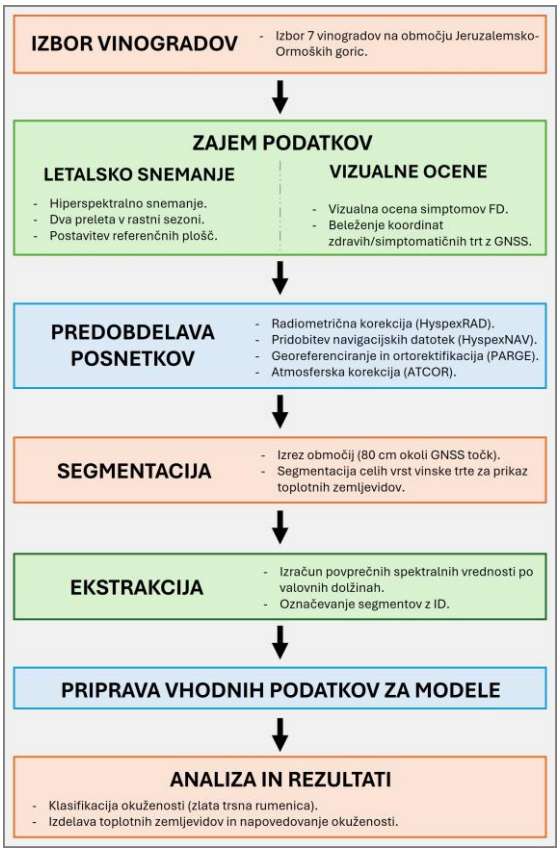
Ob snemanju smo na tla postavili referenčne plošče za pretvorbo signala v svetlobni odboj. Drugi prelet v sezoni je bil časovno usklajen z vizualnim ocenjevanjem na terenu, kar je zmanjšalo variabilnost podatkov in izboljšalo razmerje med signalom in šumom.

Obdelava hiperspektralnih slik:

Posnetke smo najprej radiometrično korigirali s programom HyspexRAD in pridobili navigacijske datoteke (HyspexNAV). Georeferenciranje z znanimi točkami v bližini vinogradov ter ortorektifikacijo smo izvedli v programu PARGE (ReSe Applications LLC, Švica). Za izračun natančnejšega svetlobnega odboja na dnu atmosfere smo posnetke atmosfersko korigirali v programu ATCOR (ReSe Applications LLC, Švica).

Segmentacijo smo izvedli tako, da smo okoli vsake GNSS-točke, ki je predstavljala simptomatično ali zdravo rastlino, ustvarili območja (bufferje) s polmerom 40 cm. Tako smo za kasnejšo uporabo zajeli le območje trt, izločili pa dele, ki predstavljajo medvrstni prostor (npr. travo, zemljo). Za vsako območje smo nato izračunali povprečne vrednosti po valovnih dolžinah in jih opremili z identifikacijsko številko. Obdelavo podatkov trt in segmentacijo posnetkov smo opravili s programoma R in QGIS. Pripravljeni tabelarni podatki so bili uporabljeni v klasifikacijskih modelih (Slika 6).

Za prikaz toplotnih zemljevidov smo pri istih vinogradih dodatno označili celotne vrste vinske trte in jih segmentirali, s čimer smo ustvarili podlago za nadaljnje napovedovanje okuženosti z zlato trsno rumenico.



Slika 6: Diagram poteka obdelave hiperspektralnih slik.

Strojno učenje in validacija modelov

Uporabili smo standardiziran cevovod za obdelavo hiperspektralnih podatkov in učenje modelov, pri čemer smo posebno pozornost namenili dosledni preprečitvi podatkovnega pronicanja med razvojnimi koraki.

Surove spektre (svetlobni odboj merjen kot odstotek odbite vpadne svetlobe za vsak spektralni pas) smo najprej korigirali z metodo multiplicative scatter correction (MSC), da smo zmanjšali vpliv sipanja svetlobe v atmosferi. Na tako korigiranih signalih smo izvedli detrending, s čimer smo odpravili počasno spreminjajočo se osnovnico in mehanske drifte, nato pa smo izračunali Savitzky–Golayeve (SG) derivate 2. reda, ki poudarijo informativne pasove in stisnejo nizkofrekvenčni šum. Vsi parametri predobdelave so bili določeni izključno na podatkih za učenje v okviru validacijskih zank, transformacije pa so bile v vsakem razcepu prilegane le na učni del in šele nato uporabljene na pripadajočem validacijskem delu.

Po predobdelavi (MSC, detrending in SG-derivati) smo spektre projicirali v frekvenčno domeno z diskretno Fourierjevo transformacijo, da bi zajeli periodične vzorce, ki v časovni/dolžinskovalovni domeni niso jasno razločljivi. Iz nastalih koeficientov smo glede na naraščajočo frekvenco obdržali prvih 50 komponent, saj te povzemajo večino informativne energije signala ob razmeroma majhnem prispevku šuma. Tako ustvarjen frekvenčni opis smo nato podali metodi delnih najmanjših kvadratov (PLS) v obliki diskriminantne analize za nadaljnje zmanjšanje dimenzionalnosti. PLS je izluščil latentne spremenljivke (LV), ki maksimirajo kovarianco med značilnicami in ciljno spremenljivko, s čimer smo zmanjšali kolinearnost, omejili prenaučenost (angl. overfitting) ter izboljšali stabilnost in razložljivost modela. Optimalno število LV smo določili z 10-krat ponovljeno navzkrižno validacijo in

vrednotenjem natančnosti diskriminantne analize s primerjavo maksimalne razdalje, razdalje med centroidi in Mahalanobisovo razdaljo. Ta postopek smo izvedli za vsak model.

Za vizualizacijo morebitnih nelinearnih struktur v spektralnih podatkih smo uporabili t-SNE (t-distributed Stochastic Neighbor Embedding). Namen analize je bil preveriti, ali se zdravi in bolni primerki naravno razporedijo v ločene grozde v nizkorazsežnem prostoru, kar bi nakazovalo na izrazite lokalne razlike v spektrih. Za robustnost smo preizkusili več nastavitvenih kombinacij hiperparametrov ter dovolj veliko število iteracij (> 1000), da se je stroškovna funkcija stabilizirala. t-SNE je primeren za naše podatke, ker ohranja lokalno sosesko (bližine) in zato dobro razkrije drobne nelinearne strukture ter deluje neodvisno od razrednih oznak, zato omogoča nepristranski vpogled v “naravno" geometrijo podatkov.
Podatkovni niz smo naključno razdelili na učni in evalvacijski del v razmerju 70:30, pri čemer smo uporabili stratificirano delitev. Evalvacijski del je ostal v celoti neodvisen in nedotaknjen do končnega preverjanja uspešnosti. Na učnem delu smo za ocenjevanje posplošitvene sposobnosti in za izbiro nastavitev izvedli 5-krat ponovljeno 5-kratno navzkrižno validacijo, kar je zagotovilo stabilne ocene variance in zmanjšalo odvisnost od posamezne delitve. V vsakem ponovitvenem sklopu smo vse korake predobdelave in prileganja modela znova izvedli iz nič, skladno s postopkovnimi dobrimi praksami.

Za modeliranje smo uporabili podporne vektorje (SVM), kjer smo hiperparametre prilagodljivo optimizirali po vnaprej definiranem iskalnem prostoru z 81 kombinacijami. Optimizacija je potekala znotraj validacijskih zank na učnem delu, pri čemer smo za vsako kombinacijo hiperparametrov izračunali povprečno uspešnost čez vse gube in ponovitve ter izbrali nastavitev, ki je dosegla najboljši kompromis med prileganjem in posplošitvijo. Ko so bili hiperparametri določeni, smo končni SVM model ponovno prilegli na celoten učni del, z enakim zaporedjem predobdelave (MSC, detrending, SG derivati) naučenim zgolj na tem delu ter nato enkratno ocenili delovanje na neodvisnem 30-odstotnem evalvacijskem naboru. Metrike uspešnosti smo izračunali na učnih validacijah za primerjavo modelov in na evalvacijskem delu kot neodvisno oceno končnega modela, s čimer smo zagotovili realističen vpogled v zanesljivost napovedi. Celoten potek omogoča ponovljivost in metodološko pravilnost, saj strogo loči faze nastavljanja, izbire modela in končne ocene.

Podatkovni nabor sestavljajo hiperspektralne meritve iz sedmih vinogradov, pri čemer je bil zajem izveden dvakrat v rastni sezoni skozi dve zaporedni leti, kar za vsak vinograd predstavlja štiri kampanje in skupno osemindvajset zajemov. Iz tega nabora smo sestavili podatkovne nabore, ločene po letih, sezoni zajema podatkov, po vinogradih ter v kombinacijah (npr. obe leti v eni sezoni za vsak vinograd). Takšna zasnova nudi celovit pregled nad poskusom, hkrati pa omogoča oceno prenosljivosti med leti, sezonske občutljivosti ter lokalne specifičnosti posameznih vinogradov.

Rezultati raziskave

DS1 Koordinacija

Za namen učinkovitega usklajevanja dela med partnerji ter hitrega prenosa informacij in spoznanj pridobljenih v posameznih fazah projekta smo izvedli tekom projekta sedem sestankov katerih so se udeležili vsi partnerji projekta in vsebinski spremljevalci iz Uprave za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin (UVHVVR).

Na spletni strani projekta https://projects.nib.si/fdgameplan/ so objavljene ključne informacije o projektu, vključno z najpomembnejšimi rezultati pridobljenimi v okviru projekta.

DS2 Možnost ugotavljanja Grapevine flavescence dorée fitoplazme (FD) v preimaginalnih stadijih ameriškega škržatka (Scaphoideus titanus Ball)

Od skupno analiziranih 27 vzorcev nimf L3 (104 osebkov), 14 vzorcev nimf L4 (27 osebkov) in 14 vzorcev nimf L5 (37 osebkov), smo prisotnost fitoplazme povzročiteljice FD potrdili zgolj v približno 7 % od vseh analiziranih vzorcev (Tabela 1).

Tabela 1: Rezultati analize vzorcev nimf na prisotnost fitoplazme povzročiteljice FD

	Št. nimf	Št. vzorcev	Št. FD pozitivnih vzorcev (%)
L3	104	27	2 (7,4 %)
L4	27	14	1 (7,1 %)
L5	37	14	1 (7,1 %)

Primerjava z rezultati analiz odraslih osebkov ameriškega škržatka

V okviru strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin smo v letu 2023 in 2024 skupno analizirali 67 vzorcev odraslih osebkov ameriškega škržatka. Slednji so bili v večini primerov ulovljeni meseca avgusta in sicer v vinogradih iz območja, kjer je bila potrjena okužba z zlato trsno rumenico. Vsak vzorec je bil sestavljen iz 1-10 osebkov. Fitoplazmo povzročiteljico FD smo v vzorcih odraslih osebkov ameriškega škržatka potrdili v 29,8 % (20 vzorcih).

DS3 Drugi možni prenašalci fitoplazme FD in njihova prisotnost v Sloveniji

Škržatki, ki so bili prepoznani na podlagi podatkov iz literature in poznavanja njihovih vedenjskih in prehranjevalnih navad kot možni prenašalci fitoplazme FD so prikazani v spodnji preglednici (Tabela 2).

Tabela 2: Seznam škržatkov potencialnih ali alternativnih prenašalcev fitoplazem 16SrV, njihove gostiteljske rastline in njihova znana razširjenost v Sloveniji ter občа razširjenost (povzetek iz poznanih objavljenih virov)

Vrsta	Gostitelj (L – ličinke; I – imaga)	Spekter gostiteljev*	Št. Rodov/l.	Splošna razširjenost	Znana razširjenost v SLO	Povezava s fitoplazmo	Vir**
Allygidius commutatus	L – trave; I – trave, listavci (*Quercus, Ulmus, Betula*)	po	1	evro-sibirska	Splošna (Seljak, 2004 + neobjavljeni podatki)		
Allygus mixtus	L – zeli in trave; I – listavci (*Quercus petraea, Q. robur*)	po	1	evropska	Splošna (Holzinger & Seljak, 2001; Seljak – še neobjavljeni podatki)	16SrV	Jarausch in sod. 2019; Malembic-Maher in sod., 2020
Allygus modestus	L – zeli in trave; I – listavci (*Quercus, Ulmus, Alnus, Acer, Prunus*, idr.)	po	1	evropska	Splošna (Holzinger & Seljak, 2001; Dariž & sod., 2022; Seljak – še neobjavljeni podatki)	16SrV	Jarausch in sod. 2019; Malembic-Maher in sod., 2020
Anoplotettix fuscovenosus	*Quercus* sp. (idr.?)	o2	1	nevromediteranska	Splošna (Holzinger & Seljak, 2001; Dariž & sod., 2022; Seljak – še neobjavljeni podatki)	16SrV (FDP)	Bressan in sod., 2006
Anoplotettix horvathi	Listavci (?)	o2 (?)	1	nevrazijska	Zelo lokalno (Holzinger & Seljak, 2001; Dariž & sod., 2022)		
Fieberiella florii	Listavci	po	1	holarktična	Splošna, pogosta (Holzinger & Seljak, 2001; Dariž & sod., 2022; Seljak – neobjavljeni podatki)	16SrX (Ca. P. mali)	Tedeschi in Alma, 2006
Lamprotettix nitidulus	L – zeli; I – zeli, listavci	po	1	evropska	Splošna, manj pogosta (Holzinger & Seljak, 2001; Seljak, 2016)	16SrV	Jarausch in sod., 2017
Oncopsis avellanae	*Corylus avellana, Alnus glutinosa* (?)	m1	1	evropska	Še ni potrjena		
Orientus ishidae	*Alnus, Malus, Pyrus, Corylus, Juglans, Salix, Populus*, ...	po	1	holarktična	Splošna, pogosta (Seljak, 2004, 2016; Dariž & sod., 2022)	16SrV (FDP), 16SrX (Ca. P. mali), 16SrIII (Ca. P. pruni)	Rosenberger in Jones, 1978; Mehle in sod., 2010; Lessio in sod., 2016; Casati in sod., 2017; Lessio in sod., 2019; Jarausch in sod. 2019; Malembic-Maher in sod., 2020; Dalmaso in sod., 2021; Rigamonti in sod., 2021
Phlogotettix cyclops	Listavci, *Vitis*	po	1	nevrazijska	Lokalno, manj pogosta (Seljak, 2016; Dariž & sod., 2022)	16SrV (FDP)	Strauss in Reisenzein, 2018
Thamnotettix confinis	L – zeli; I – *Quercus, Betula, Rubus*, idr.	po	1	holarktična	Splošna, manj pogosta (Holzinger & Seljak, 2001)		
Thamnotettix dilutior	L – zeli; I – listavci	po	1	evropska	Splošna, pogosta (Holzinger & Seljak, 2001)	16SrV	Casati in sod., 2017

* Gostiteljski obseg (po Nickel, 2003):

- m1 – monofag 1. stopnje (vezana na 1 rastlinsko vrsto)
- m2 – monofag 2. stopnje (vezana na 1 rastlinski rod)
- o1 – oligofag 1. stopnje (vezana na 1 rastlinsko družino)

- o2 – oligofag 2. stopnje (vezan na dve rastlinski družini ali na največ 4 vrste, ki pripadajo različnim rastlinskim družinam)
- po – polifag

**Seznam referenc:

- Bressan, A. in sod. (2006) Phytopathology 96(7), 790-796
- Casati, P. in sod. (2017) Ann Appl Biol 17(1), 37-51
- Dalmaso, G. in sod. (2021) VIII Incontro Nazionale sui Fitoplasmi e Malattie da Fitoplasmi, Catania, 14.-15. 10. 2021, 31
- Dariž, J. in sod. (2022) Zbornik predavanj in referatov s 15. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Portorož, 1.–2. 3. 2022
- Holzinger, W.E., Seljak, G. (2001) Acta Entomol Slov 9(1), 39-66
- Jarausch, B. in sod. (2017) VII Incontro Nazionale sui Fitoplasmi e le Malattie da Fitoplasmi, Grugliasco, 11-13. 9. 2017, 45
- Jarausch, B. in sod. (2019) Phytopathogenic Mollicutes 9, 59–60
- Lessio, F. in sod. (2019) J Econ Entomol 112, 2558-2564
- Lessio, F. in sod. (2016) Bull Insectol 69, 277-289
- Malembic-Maher, S. in sod. (2020) PLoS Pathog 16(3), e1007967
- Mehle, N. in sod. (2010) New Disease Reports 22, 11
- Nickel, H. (2003) The Leafhoppers and Planthoppers of Germany. Pensoft Publishers, Sofia-Moscow & Goecke & Evers, Keltern, 460 str.
- Nickel, H., Remane, R. (2002) Beiträge zur Zikadenkunde 5, 27-64
- Rigamonti, I.E. in sod. (2021) High infection rate of “flavescence dorée” phytoplasmas in *Orientus ishidae* and *Alnus glutinosa* in Valtellina, 14.-15. 10. 2021, 28
- Rosenberger, D.A., Jones, A.L. (1978) Phytopathology 68, 782-790
- Seljak, G. (2004) Acta Entomol Slov 12(2), 189-216
- Seljak, G. (2016) Acta Entomol Slov 24(2), 151-200
- Strauss, G., Reisenzein, H. (2018) Integrated Protection in Viticulture IOBC-WPRS Bull 139, 12-21
- Tedeschi, R., Alma, A. (2006) Plant Disease 90, 284-290

V letu 2023 smo v okviru sistematičnega spremljanja škržatkov na štirih reprezentativnih lokacijah po Sloveniji, kjer so bili vinogradi v neposredni bližini nasadov ali večjih sestojev leske (Šempas, Lekmarje, Ilovci, Litmerk) identificirali 52 vrst škržatkov, med njimi 12 vrst s statusom možnega prenašalca fitoplazem (*Allygidius atomarius, Allygidius, commutatus, Allygus modestus, Anoplotettix fuscovenosus, Anoplotettix horvathi, Fieberiella flori, Lamprotettix nitidulus, Oncopsis avellanae, Orientus ishidae, Phlogotettix cyclops, Thamnotettix confinis in Thamnotettix dilutior)* (Slika 7, Slika 8, Slika 9, Slika 10). V *nasadih* leske na vseh štirih lokacijah je izrazito izstopal ulov vzhodnjaškega škržatka. Številčne so bile tudi vrste *A. fuscovenosus*, *P. cyclops* in *F. florii*. Podobno vrstno zastopanost škržatkov, vendar manjšo številčnost smo zabeležili tudi v mejicah v neposredni bližini leskovih nasadov. V vinogradih so bile populacije škržatkov na splošno majhne. Prevladoval je ameriški škržatek, po številčnosti mu je sledila vrsta *A. fuscovenosus*. V vinogradu na lokaciji Lekmarje je bil drugi najpogostejši *A. horvathi*. Relativno skromen ulov vzhodnjaškega škržatka v vinogradih (primerjalno glede na ulov v nasadih lesk) kaže na to, da vinska trta ni dober gostitelj te vrste. Preostale vrste potencialnih prenašalcev fitoplazem, so se pojavljale v zelo majhnem številu. Med potencialnimi prenašalci FD fitoplazme, ki jih navaja literatura, na izbranih lokacijah spremljanja nismo potrdili le vrste *Allygus mixtus*, kljub temu, da je v Sloveniji splošno razširjena.

Iz podatkov monitoringa je možno zadovoljivo natančno razbrati tudi populacijsko dinamiko pogostejših vrst škržatkov (Slika 11). Vrsti *Scaphoideus titanus* in *Orientus ishidae* imata skoraj identično dinamiko, saj se odrasli osebki pojavljajo od konca junija oziroma začetka julija do sredine septembra. Odrasli osebki vrst *Anoplotettix fuscovenosus* letajo od konca maja do konca julija. Vrsta *Phlogotettix cyclops* se pojavi šele od začetka avgusta naprej, medtem ko je *Fieberiella florii* prisotna od maja pa vse do jeseni (podatki za *F. florii* na sliki niso prikazani). Ti podatki so uporabni za načrtovanje nadaljnjega monitoringa ter ukrepov v okviru fitosanitarnega nadzora.

ŠEMPAS (GO)		Datum =>	
Vrsta	Družina	VEKTOR	LESKA
Allygidius atomarius (Fabricius)	Cicadellidae	√	1
Allygidius commutatus (Scott)	Cicadellidae	√	3
Allygidius furcatus (Ferrari, 1882)	Cicadellidae	√	0
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	√	0
Anoplotettix fuscovenosus (Ferrari)	Cicadellidae	√	341
Fieberiella florii (Stal)	Cicadellidae	√	21
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	√	379
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	√	0
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	√	0
Thamnotettix dilutior (Kirschbaum)	Cicadellidae	√	1
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	?	0
Reptalus quinquecostatus (Dufour, 1833)	Cixiidae	?	8
Dictyophara europaea (Linneus, 1767)	Dictyopharidae	?	0
Aphrophora alni (Fallén)	Aphrophoridae	?	1
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	?	35

ŠEMPAS (GO)		
Vrsta	Družina	LESKA_M
Allygidius atomarius (Fabricius)	Cicadellidae	8
Allygidius commutatus (Scott)	Cicadellidae	8
Allygidius furcatus (Ferrari, 1882)	Cicadellidae	2
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	0
Anoplotettix fuscovenosus (Ferrari)	Cicadellidae	20
Fieberiella florii (Stal)	Cicadellidae	3
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	297
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	13
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	0
Thamnotettix dilutior (Kirschbaum)	Cicadellidae	5
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	0
Reptalus quinquecostatus (Dufour, 1833)	Cixiidae	2
Dictyophara europaea (Linneus, 1767)	Dictyopharidae	0
Aphrophora alni (Fallén)	Aphrophoridae	4
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	28

ŠEMPAS (GO)		
Vrsta	Družina	VINSKA TRTA
Allygidius atomarius (Fabricius)	Cicadellidae	1
Allygidius commutatus (Scott)	Cicadellidae	0
Allygidius furcatus (Ferrari, 1882)	Cicadellidae	1
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	4
Anoplotettix fuscovenosus (Ferrari)	Cicadellidae	77
Fieberiella florii (Stal)	Cicadellidae	5
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	19
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	0
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	301
Thamnotettix dilutior (Kirschbaum)	Cicadellidae	1
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	3
Reptalus quinquecostatus (Dufour, 1833)	Cixiidae	2
Dictyophara europaea (Linneus, 1767)	Dictyopharidae	3
Aphrophora alni (Fallén)	Aphrophoridae	0
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	9

ŠEMPAS (GO)		
Vrsta	Družina	V. TRTA_M
Allygidius atomarius (Fabricius)	Cicadellidae	2
Allygidius commutatus (Scott)	Cicadellidae	11
Allygidius furcatus (Ferrari, 1882)	Cicadellidae	15
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	6
Anoplotettix fuscovenosus (Ferrari)	Cicadellidae	137
Fieberiella florii (Stal)	Cicadellidae	6
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	314
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	1
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	10
Thamnotettix dilutior (Kirschbaum)	Cicadellidae	2
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	5
Reptalus quinquecostatus (Dufour, 1833)	Cixiidae	23
Dictyophara europaea (Linneus, 1767)	Dictyopharidae	1
Aphrophora alni (Fallén)	Aphrophoridae	1
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	28

Slika 7: Število škržatkov ulovljenih v nasadu leske (levo zgoraj), vinogradu (levo spodaj) ter v mejicah (desno) v Šempasu

LEKMARJE (IHPS)		Datum =>	
Vrsta	Družina	VEKTOR	LESKA
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	√	2
Anoplotettix horvathi Metcalf, 1955	Cicadellidae	√	5
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	√	65
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	√	0
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	√	0
Thamnotettix dilutior (Kirschbaum)	Cicadellidae	√	0
Hyalesthes obsoletus Signoret, 1865	Cixiidae	√	0
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	?	0
Aphrophora alni (Fallén)	Aphrophoridae	?	21
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	?	52

LEKMARJE (IHPS)		
Vrsta	Družina	LESKA_M
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	3
Anoplotettix horvathi Metcalf, 1955	Cicadellidae	1
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	110
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	0
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	1
Thamnotettix dilutior (Kirschbaum)	Cicadellidae	8
Hyalesthes obsoletus Signoret, 1865	Cixiidae	0
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	5
Aphrophora alni (Fallén)	Aphrophoridae	95
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	34

LEKMARJE (IHPS)		
Vrsta	Družina	V. TRTA
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	1
Anoplotettix horvathi Metcalf, 1955	Cicadellidae	10
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	5
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	2
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	33
Thamnotettix dilutior (Kirschbaum)	Cicadellidae	0
Hyalesthes obsoletus Signoret, 1865	Cixiidae	1
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	1
Aphrophora alni (Fallén)	Aphrophoridae	3
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	46

LEKMARJE (IHPS)		
Vrsta	Družina	TRTA_M
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	3
Anoplotettix horvathi Metcalf, 1955	Cicadellidae	30
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	29
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	1
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	86
Thamnotettix dilutior (Kirschbaum)	Cicadellidae	0
Hyalesthes obsoletus Signoret, 1865	Cixiidae	0
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	0
Aphrophora alni (Fallén)	Aphrophoridae	17
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	26

Slika 8: Število škržatkov ulovljenih v nasadu leske (levo zgoraj), vinogradu (levo spodaj) ter v mejicah (desno) v Lekmarjih

ILOVCI (MB)		Datum =>	
Vrsta	Družina	VEKTOR	LESKA
Allygidius abbreviatus (Lethierry, 1878)	Cicadellidae	√	0
Allygidius atomarius (Fabricius)	Cicadellidae	√	0
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	√	2
Anoplotettix fuscovenosus (Ferrari)	Cicadellidae	√	4
Lamprotettix nitidulus (Fabricius, 1787)	Cicadellidae	√	
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	√	46
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	√	44
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	√	7
Thamnotettix dilutior (Kirschbaum)	Cicadellidae	√	2
Hyalesthes obsoletus Signoret, 1865	Cixiidae	√	0
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	?	0
Dictyophara europaea (Linneus, 1767)	Dictyopharidae	?	0
Aphrophora alni (Fallén)	Aphrophoridae	?	3
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	?	11

ILOVCI (MB)		
Vrsta	Družina	LESKA_M
Allygidius abbreviatus (Lethierry, 1878)	Cicadellidae	1
Allygidius atomarius (Fabricius)	Cicadellidae	3
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	3
Anoplotettix fuscovenosus (Ferrari)	Cicadellidae	6
Lamprotettix nitidulus (Fabricius, 1787)	Cicadellidae	
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	13
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	16
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	58
Thamnotettix dilutior (Kirschbaum)	Cicadellidae	0
Hyalesthes obsoletus Signoret, 1865	Cixiidae	0
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	4
Dictyophara europaea (Linneus, 1767)	Dictyopharidae	1
Aphrophora alni (Fallén)	Aphrophoridae	0
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	9

ILOVCI (MB)		
Vrsta	Družina	V. TRTA
Allygidius abbreviatus (Lethierry, 1878)	Cicadellidae	0
Allygidius atomarius (Fabricius)	Cicadellidae	0
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	1
Anoplotettix fuscovenosus (Ferrari)	Cicadellidae	3
Lamprotettix nitidulus (Fabricius, 1787)	Cicadellidae	
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	11
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	0
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	16
Thamnotettix dilutior (Kirschbaum)	Cicadellidae	1
Hyalesthes obsoletus Signoret, 1865	Cixiidae	1
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	2
Dictyophara europaea (Linneus, 1767)	Dictyopharidae	0
Aphrophora alni (Fallén)	Aphrophoridae	0
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	7

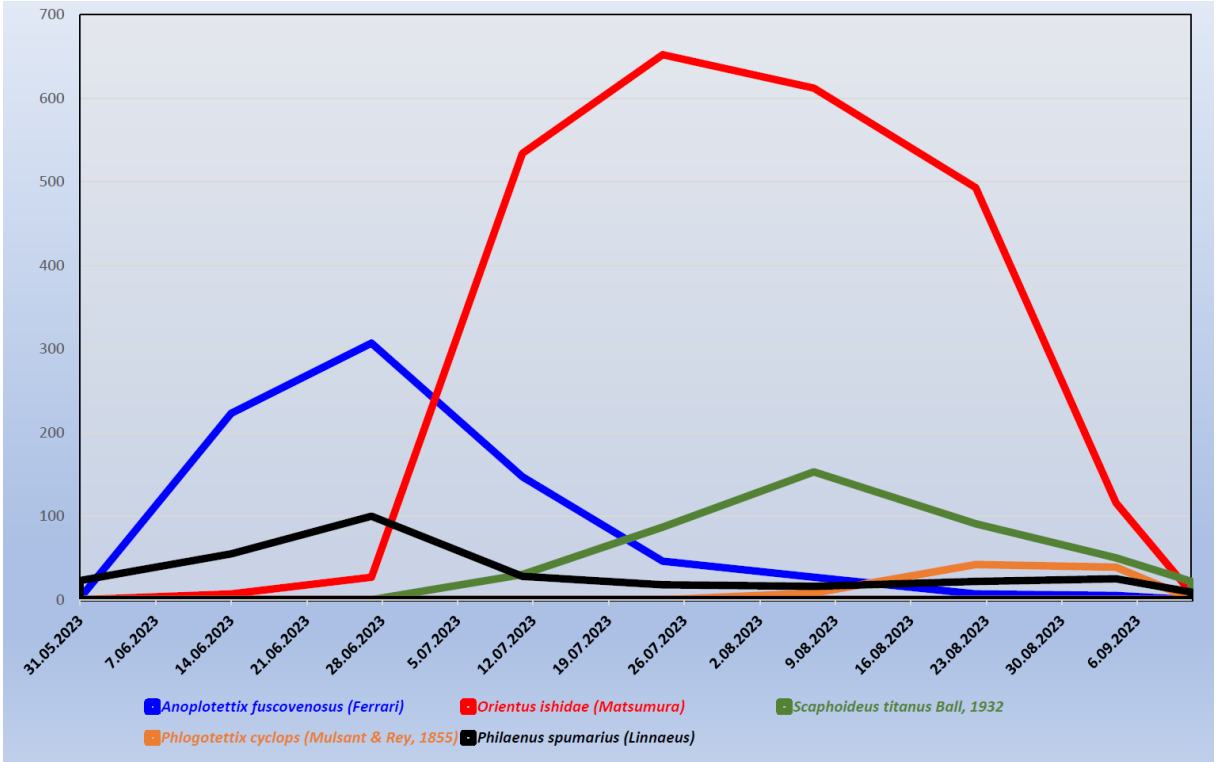
ILOVCI (MB)		
Vrsta	Družina	TRTA_M
Allygidius abbreviatus (Lethierry, 1878)	Cicadellidae	0
Allygidius atomarius (Fabricius)	Cicadellidae	0
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	0
Anoplotettix fuscovenosus (Ferrari)	Cicadellidae	35
Lamprotettix nitidulus (Fabricius, 1787)	Cicadellidae	
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	34
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	10
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	7
Thamnotettix dilutior (Kirschbaum)	Cicadellidae	1
Hyalesthes obsoletus Signoret, 1865	Cixiidae	0
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	0
Dictyophara europaea (Linneus, 1767)	Dictyopharidae	0
Aphrophora alni (Fallén)	Aphrophoridae	0
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	5

Slika 9: Število škržatkov ulovljenih v nasadu leske (levo zgoraj), vinogradu (levo spodaj) ter v mejicah (desno) v Ilovcih.

LITMERK (MB)		Datum =>	
Vrsta	Družina	VEKTOR	LESKA
Allygidius atomarius (Fabricius)	Cicadellidae	√	0
Allygus mixtus (Fabricius, 1794)	Cicadellidae	√	1
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	√	4
Anoplotettix fuscovenosus (Ferrari)	Cicadellidae	√	133
Fieberiella florii (Stal)	Cicadellidae	√	10
Oncopsis avellanae Edwards	Cicadellidae	√	0
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	√	1112
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	√	5
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	√	1
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	?	8
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	?	3

LITMERK (MB)		
Vrsta	Družina	V. TRTA
Allygidius atomarius (Fabricius)	Cicadellidae	2
Allygus mixtus (Fabricius, 1794)	Cicadellidae	0
Allygus modestus Scott, 1876	Cicadellidae	2
Anoplotettix fuscovenosus (Ferrari)	Cicadellidae	8
Fieberiella florii (Stal)	Cicadellidae	1
Oncopsis avellanae Edwards	Cicadellidae	1
Orientus ishidae (Matsumura)	Cicadellidae	15
Phlogotettix cyclops (Mulsant & Rey, 1855)	Cicadellidae	0
Scaphoideus titanus Ball, 1932	Cicadellidae	11
Reptalus panzeri (Löw, 1883)	Cixiidae	1
Philaenus spumarius (Linnaeus)	Aphrophoridae	3

Slika 10: Število škržatkov ulovljenih v nasadu leske (zgoraj) in vinogradu (spodaj) v Litmerku.



Slika 11: Dinamika ulova petih vrst škržatkov na rumene lepljive plošče.

DS4 Okuženost drugih možnih prenašalcev fitoplazme FD v vinogradih, nasadih lesk in v njihovi okolici

V letu 2024 je bilo ulovljenih 3052 škržatkov – možnih prenašalcev FD (Slika 12). Največji delež ulovljenih škržatkov 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 škržatkov so bile na obeh gostiteljskih rastlinah in njihovi okolici zastopane v manjšem številu.

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

Slika 12: Število ulovljenih škržatkov po vrstah in gostiteljskih rastlinah v letu 2024. Prikazano je skupno število posameznih vrst škržatkov, ulovljenih v vinogradih z okolico (ikona grozda) in v nasadih lesk z okolico (ikona lešnika).

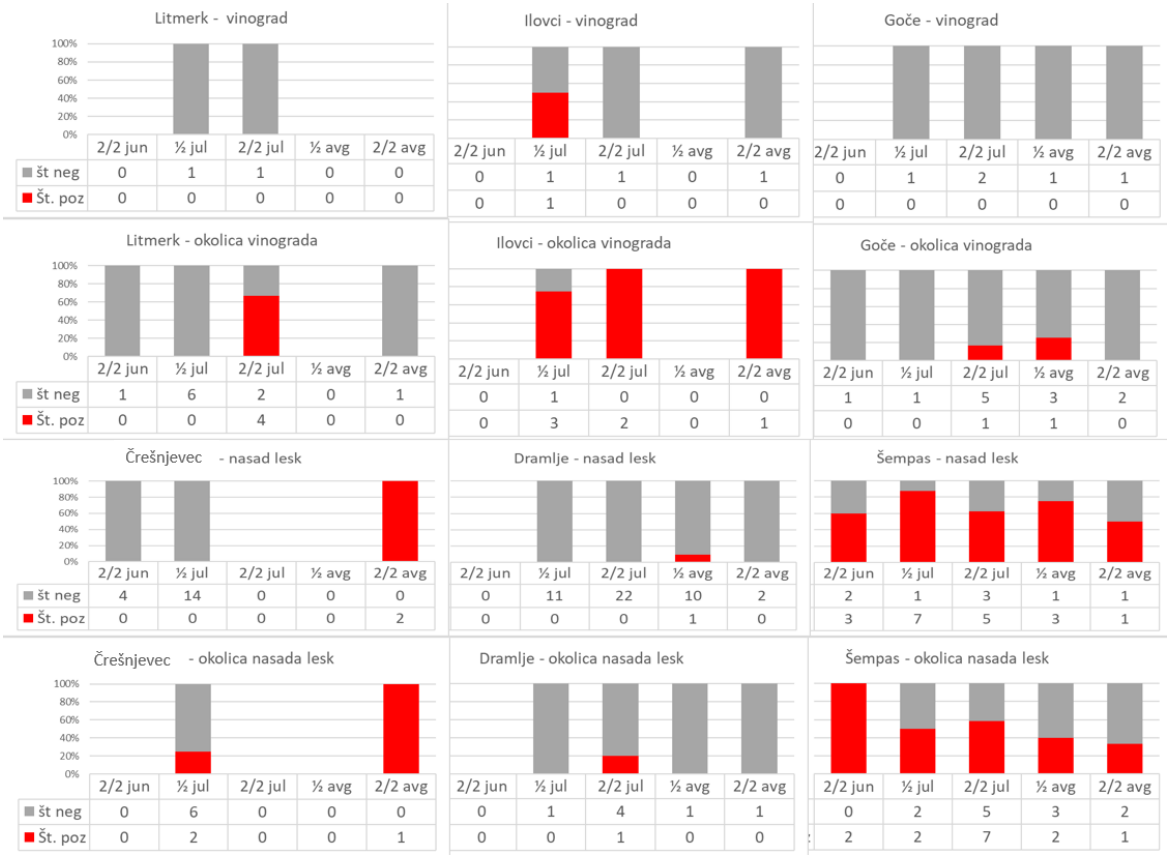
Od vseh ulovljenih škržatkov smo za nadaljnjo analizo izbrali 1407 osebkov, ki smo jih glede na vrsto, lokacijo in čas ulova združili v 263 vzorcev (vsak vzorec je vseboval od 1 do 10 osebkov iste vrste in iz istega okolja); skupno je bilo na fitoplazmo iz skupine 16SrV testiranih 106 vzorcev iz vinogradov in 157 iz nasadov lesk (Slika 13).

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 13). Podrobnejša razporeditev pozitivnih in negativnih vzorcev *O. ishidae* po lokacijah in časovnih obdobjih je prikazana na Slika 14.

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 škržatkov prisotnosti fitoplazme iz skupine 16SrV nismo zaznali (Slika 13).

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

Slika 13: Število pozitivnih in vseh testiranih vzorcev posameznih vrst škržatkov, 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).

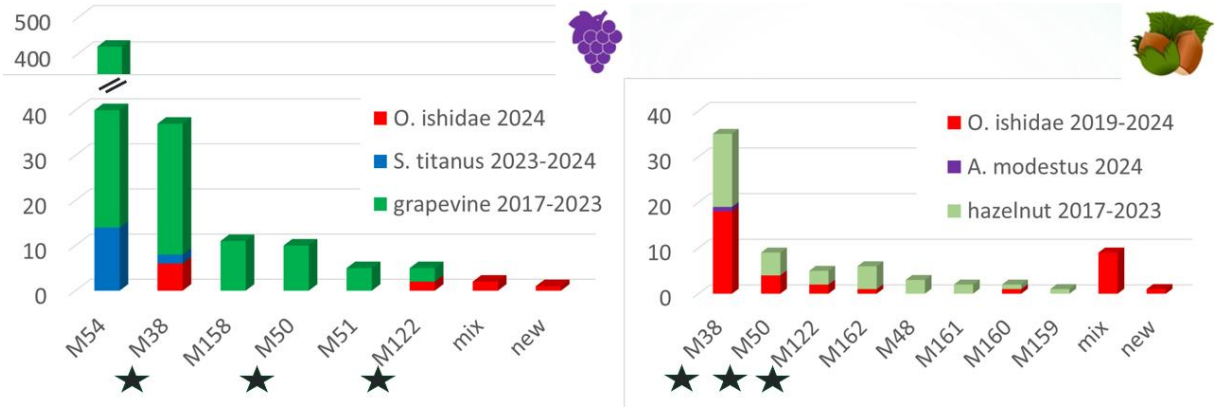


Slika 14: Število pozitivnih in negativnih vzorcev vrste Orientus ishidae po lokacijah (vinogradi, nasadi lesk in njihova okolica) ter časovnih obdobjih vzorčenja v letu 2024.

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 15; Kogej Zwitter in sod., 2023; Mehle in sod., 2024; Mehle in sod., 2025) pokaže jasen vzorec:

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



Slika 15: Primerjava map genotipov fitoplazem 16SrV v različnih gostiteljih in prenašalcih (na y-osi je prikazano število vzorcev).

DS5 Proučevanje vzhodnjaškega škratka (Orientus ishidae)

Proučevanje bionomije vzhodnjaškega škržatka

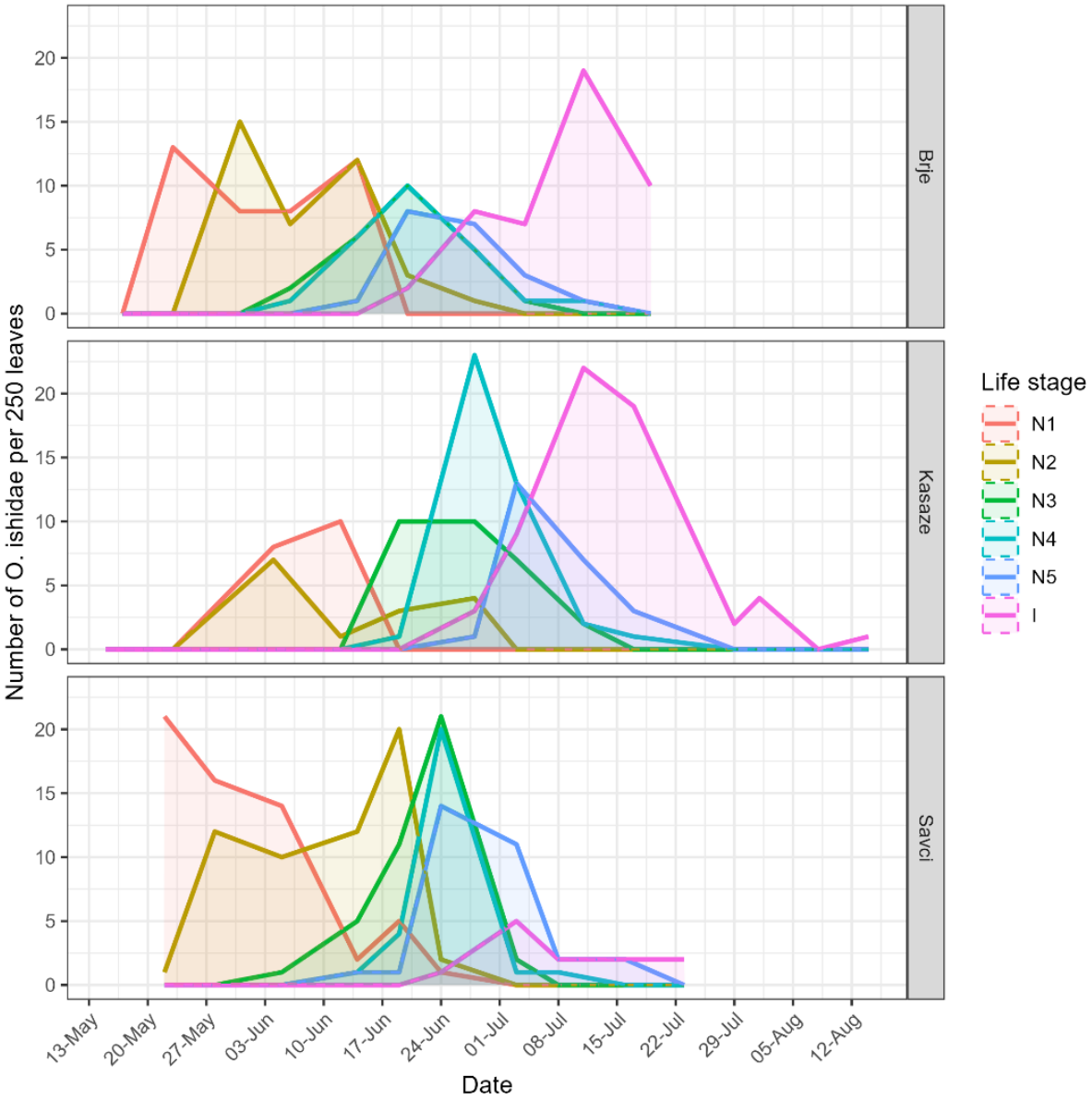
S spremljanjem izleganja preimaginalnih stadijev vzhodnjaškega škržatka smo pričeli sredi maja 2024. Prve ličinke (L1) smo opazili v zadnji dekadi maja (23.5.2024) (Slika 16). Na lokaciji Savci smo ličinko prvega (L1) in drugega stadija (L2) opazili že pri prvem pregledu, ko so L1 že dosegle vrh. Ličinke *O. ishidae* na lokaciji v Brjah in Savcih so se pojavile 2 tedna prej (druga dekada maja) kot v Kasazah, kjer so se L1 pojavile v začetku junija (vpliv lokacije in vremenskih razmer). Tudi vsi nadaljnji razvojni stadiji vzhodnjaškega škržatka so se na lokaciji Savci in Brje pojavili približno 14 dni prej.

Ličinke L2 so vrh dosegle konec maja (Savci) oz. začetek junija (Brje, Kasaze). Dolžina pojavljanja ličink L2 je bila na vseh opazovanih lokacijah najdaljša (v primerjavi z ostalimi razvojnimi stadiji). Ličinke L3 so se pojavile v začetku junija, v Kasazah sredi junija. Prve odrasle škržatke smo opazili v drugi dekadi junija (Slika 16).

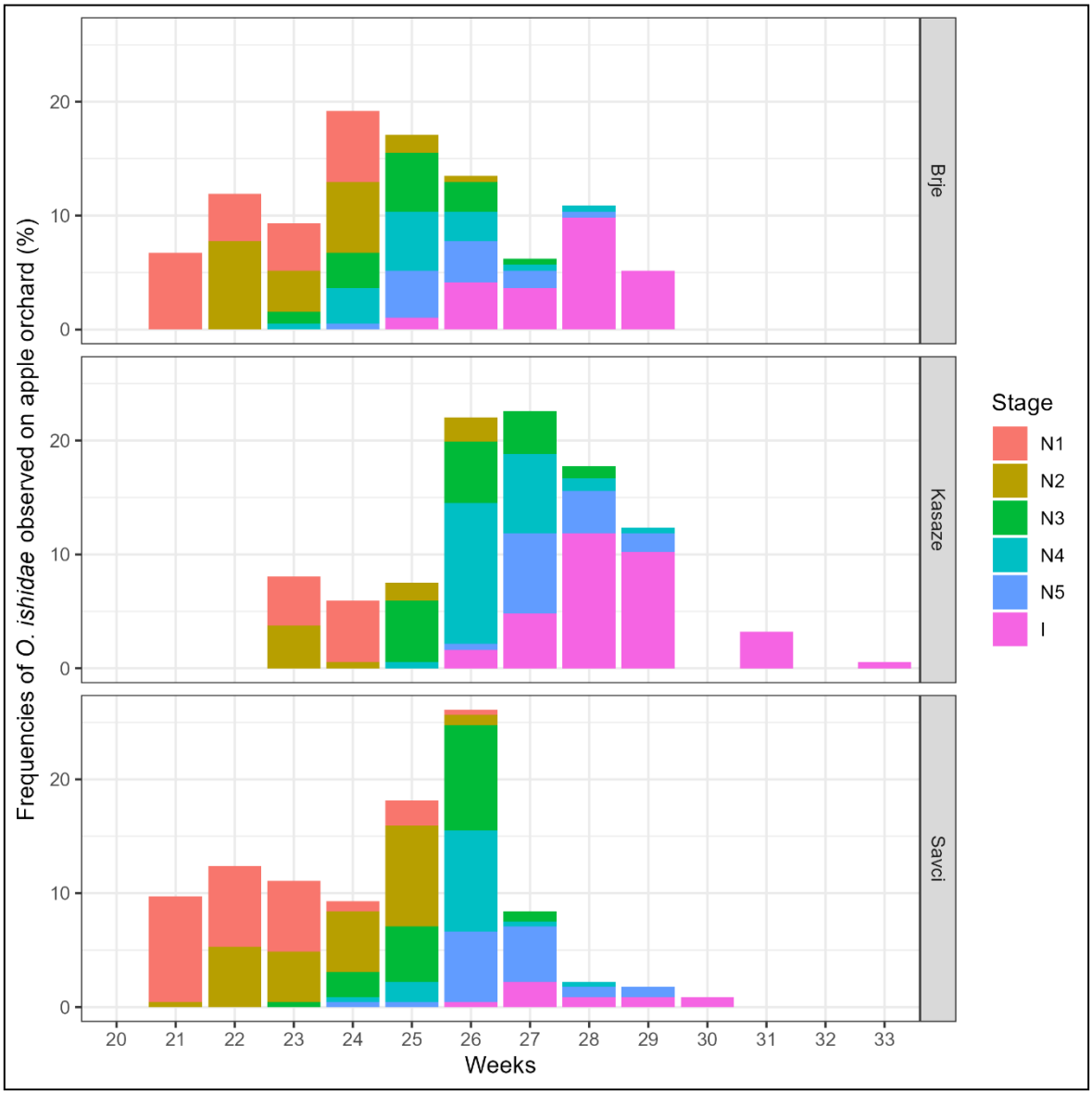
Delež pojavljanja posameznih stadijev vzhodnjaškega škržatka na opazovanih lokacijah je razviden na Slika 17. Intenziteta pojavljanja in številčnost vzhodnjaškega škržatka sta bili največji od sredine junija do konca junija, ko so bili prisotni vsi razvojni stadiji ličink (L2-L5) in tudi že odrasli osebki (imagi)

Tabela 3 prikazuje skupno dolžino trajanja posameznih razvojnih stadijev vzhodnjaškega škržatka. Veliko razliko v dolžini pojavnosti pri odraslih osebkih (najdlje v Kasazah), pripisujemo predvsem različni dolžini opazovanja.

S spremljanjem odraslih škržatkov z RLP smo pričeli sredi junija. Prve odrasle osebke smo našli v drugi dekadi junija (Slika 18). Vrh pojava odraslih osebkov vzhodnjaškega škržatka je bil v Brjah 11.7.2024, v Savcih 23.7.2024. V Kasazah smo imeli prvi vrh 17.7.2024 in drugega 5.8.2024. Odrasli škržatki so se v nasadih jablan pojavljali vse do konca avgusta..



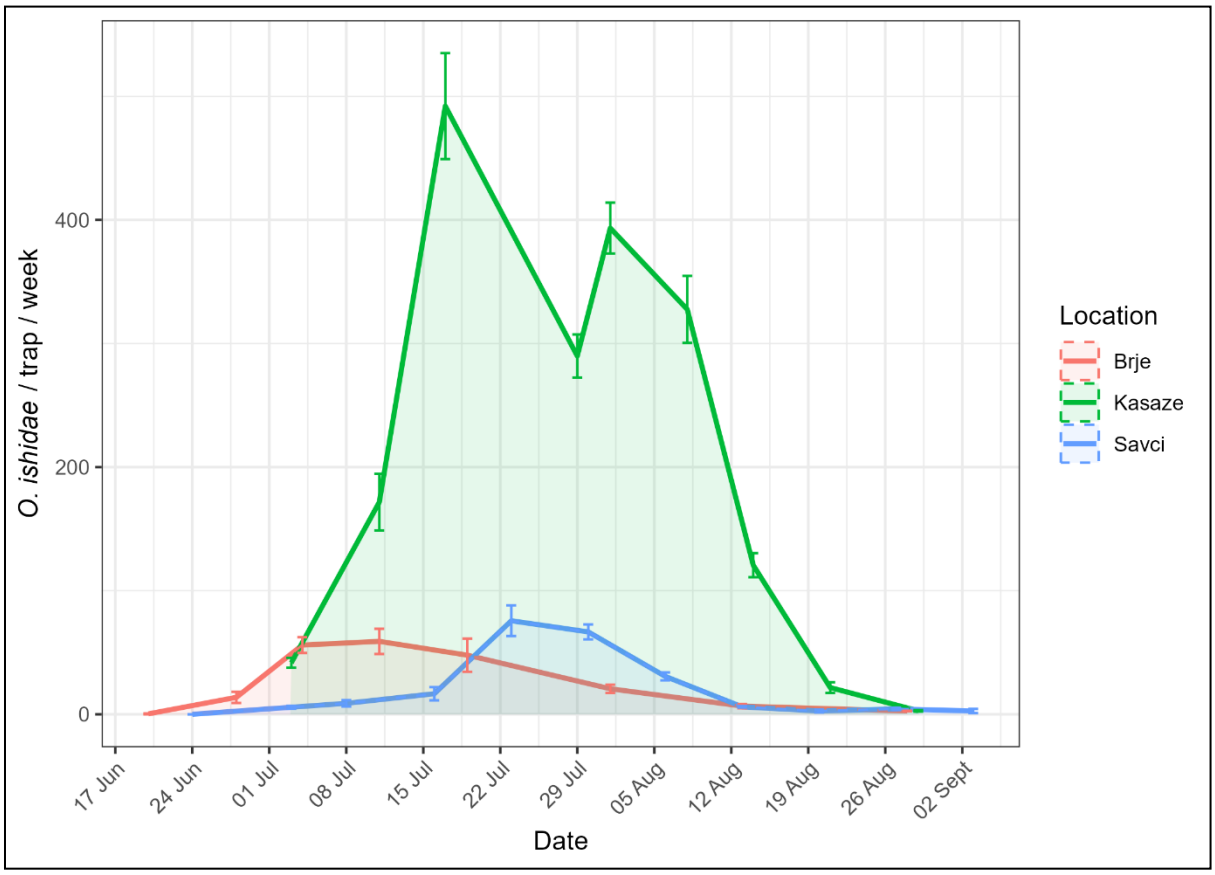
Slika 16: Skupno število ličink posameznih stadijev vzhodnjaškega škržatka (Orientus ishidae) pri vizualnih pregledanih 250 naključnih listih jablan v 3 sadovnjakih (Brje, Kasaze in Savci) v letu 2024. N – ličinka; I – odrasli osebek.



Slika 17: Pogostnost pojavljanja ličink vzhodnjaškega škržatka (Orientus ishidae) pri vizualnem pregledu 250 naključnih listov jablane v letu 2024 v 3 sadovnjakih; Brje (N=193), Kasaze (N=186) in Savci (N=226), izražene v odstotku. N – ličinka; I – odrasli osebek.

Tabela 3: Skupno trajanje življenjskih obdobij v dnevih za Orientus ishidae v Brjah, Kasazah in Savcih v letu 2024.

Location	1st instar	2nd instar	3rd instar	4th instar	5th instar	Imaginal instar
Brje	22 days	28 days	28 days	35 days	27 days	29 days
Kasaze	8 days	24 days	22 days	28 days	19 days	47 days
Savci	33 days	33 days	28 days	24 days	32 days	29 days



Slika 18: Sezonska dinamika pojavljanja odraslih osebkov vzhodnjaškega škržatka (Orientus ishidae) v treh sadovnjakih (Brje, Kasaze, Savci) v letu 2024, izražen v povprečnem številu ujetih odraslih osebkov na RLP/teden.

Preverjanje možnosti prenosa fitoplazme FD med leskami in na trto z vzhodnjaškim škržatkom

Leta 2023 so bili postavljeni trije mrežniki; v prvem mrežniku so bile posajene leske sorte 'Istrska dolgoplodna' (8 rastlin), v drugem vinska trte sorta 'Chardonnay' (11 rastlin), v tretjem mrežniku, ki služi kot negativna kontrola, pa so bile posajene leske (Istrska dolgoplodna – 8 rastlin) in vinska trta (Chardonnay – 12 rastlin).

V 1. in 2. mrežnik smo v letu 2023 in 2024 vnašali odrasle osebke vzhodnjaškega škržatka iz okuženega leskovega nasada v Črešnjevcu, kjer je bila predhodno potrjena fitoplazma 16SrV. S poskusi smo v okviru strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin nadaljevali tudi v letu 2025, ko smo v mrežnika vnašali vzhodnjaškega škržatka iz okuženega leskovega nasada v Šempasu (lokacija izbire za lovljenje vzhodnjaškega škržatka v letu 2025 je bila izbrana na podlagi rezultatov DS4). Število vnesenih osebkov vzhodnjaškega škržatka v mrežnika je prikazano v spodnji preglednici (Tabela 4).

Tabela 4: Število osebkov vzhodnjaškega škržatka vnesenih v poskusne mrežnike

Leto ulova	Mesec ulova	Lokacija ulova	Število osebkov vnesenih v mrežnik		
			Mrežnik z leskami	Mrežnik s trto	Mrežnik z leskami in trto (kontrola)
2023	Avgust	Črešnjevci	17	12	0
2024	Julij	Črešnjevci	298	328	0
2025	Julij	Šempas	451	551	0

Ob koncu rastne sezone 2023 in 2024 smo vse rastline v mrežnikih (tudi v kontrolnem) ponovno analizirali na prisotnost fitoplazem. Rezultati so pokazali, da vzhodnjaški škržatek v dvoletnem obdobju izvajanja poskusov še ni prenesel fitoplazme iz okuženega leskovega nasada na trto ali na drugo lesko. Razlog za to je najverjetneje v tem, da smo v letu 2023 v mrežnika vnesli zelo majhno število osebkov, v letu 2024 pa so bili osebki vzhodnjaškega škržatka, ki smo jih ulovili in prenesli v mrežnike, kljub večjemu številu, zelo verjetno v času lova negativni na fitoplazmo (predvidevanje je narejeno glede na rezultate analiz na vzorcih osebkov ulovljenih na istem območju in v časovno istem okviru kot za namen naloge DS4, glej Slika 14).

V letu 2025 smo v okviru strokovne naloge s področja zdravstvenega varstva rastlin na podlagi laboratorijskih analiz naključno izbranih osebkov ocenili tudi delež osebkov, ki je bil v času vnosa v letu 2025 okužen s fitoplazmo 16SrV in sicer je ta znašal 16% (4 osebki pozitivni od 35 analiziranih). Rezultati analize vzorcev trt in lesk iz mrežnikov po zaključku rastne dobe v letu 2025 bodo predvidoma znani konec oktobra 2025.

Proučevanje možnosti zatiranja vzhodnjaškega škržatka z insekticidi na leskah

Na podlagi podatkov iz literature ter izkušenj iz tujine, smo preverili seznam insekticidov, ki bi bili lahko primerni za zatiranje vzhodnjaškega škržatka in za uporabo v nasadih leske. Pri tem smo se osredotočili na insekticidne aktivne snovi, ki so že dovoljene na leskah za zatiranje lešnikarja.

Trenutno imamo nekaj insekticidov, ki so dovoljeni za uporabo v nasadih lesk (Tabela 5). Med temi insekticidi in aktivnimi snovmi, bi glede na način delovanja in čas uporabe lahko imeli stransko delovanje na vzhodnjaškega škržatka naslednji insekticidi: Asset five (piretrin), Decis 100 EC (deltametrin) in Decis 2,5 EC (deltametrin). Vsi trije insekticidi imajo kontaktno delovanje. Ker ima vzhodnjaški škržatek podobno bionomijo kot ameriški škržatek, bi bilo za njegovo zatiranje smiselno pridobiti še kakšno aktivno snov s sistemičnim načinom delovanja. Med pogosto uporabljenimi sistemičnimi insekticidi je Mospilan 20 SG (aktivna snov acetamiprid). Pri zastopniku v Sloveniji smo povprašali o možnosti razširitve uporabe tega pripravka na leske, vendar do zaključka projektaodgovora še nismo prejeli.

Tabela 5: Registrirani insekticidi, ki se smejo uporabljati v leskah v Sloveniji (vir: Fito-info, 2025)

Ime pripravka	Aktivna snov	Št. uporab letno	Za zatiranje – zmanjševanje populacije škodljivcev
ASSET FIVE	piretrin	3-krat	Lešnikar (*Curculio nucum*); manjša uporaba* za marmorirano smrdljivko (*Halyomorpha halys*); delno zmanjšuje številčnost ostrorobe usnjatke (*Gonoceros acuteangulatus*);
DECIS 100 EC	deltametrin	1-krat	Marmorirana smrdljivka (*Halyomorpha halys*); manjša uporaba*
DECIS 2,5 EC	deltametrin	2-krat	Marmorirana smrdljivka (*Halyomorpha halys*); manjša uporaba*
NATURALIS	Beauveriabassiana sev ATCC 74040	5-krat	lešnikar(*Curculio nucum*); manjša uporaba*

*učinkovitost ni bila preverjena

DS6 Pomen lesk kot rezervoar za prenos FD na trto

Skupno je bilo odvzetih 81 vzorcev lesk – 24 gojenih in 57 samoniklih (Tabela 6). Prisotnost fitoplazem iz skupine 16SrV, smo potrdili v dveh vzorcih samoniklih lesk, kar predstavlja 2,5 % vseh 81 analiziranih vzorcev. Obe pozitivni leski sta rastli v neposredni bližini vinogradov – ena približno 200 m od vinograda s potrjeno okužbo z FD, druga pa 50 m od vinograda, kjer okužba z FD še ni bila potrjena. V obeh primerih je bila koncentracija fitoplazme prenizka za uspešno določitev genotipa *map*.

Prisotnost drugih fitoplazem smo zaznali v 15 vzorcih (18,5 %; Tabela 6). V večini primerov je bila njihova koncentracija prenizka za zanesljivo identifikacijo, v nekaj primerih pa je bila potrjena prisotnost fitoplazme *'Candidatus* Phytoplasma fragariae'. Delež pozitivnih na te druge fitoplazme je bil višji pri gojenih leskah (9 od 24 vzorcev; 37,5 %) kot pri samoniklih (6 od 57 vzorcev; 10,5 %).

Tabela 6: Rezultati testiranja samoniklih in gojenih lesk vzorčenih v letih 2023 in 2024 v bližini vinogradov s potrjeno okužbo z FD in v bližini vinogradov kjer okužba z FD še ni bila potrjena.

	Bližina vinograda	Št. analiziranih vzorcev lesk	Št. lesk pozitivnih na fitoplazmo iz skupine 16SrV	Št. lesk pozitivnih na druge fitoplazme
Samonikla leska	s potrjeno okužbo za FD	42[a]	1	4
	s še ne potrjeno okužbo za FD	15[b]	1	2
Gojena leska	s potrjeno okužbo za FD	6[c]	0	0
	s še ne potrjeno okužbo za FD	18[b]	0	9

[a]5 lesk oddaljenih 5 km od vinograda, ostale v neposredni bližini vinograda oddaljene 0 - 270 m
[b] leske v neposredni bližini vinograda ali od vinograda oddaljene do 500 m
[c]5 lesk oddaljenih od vinograda 5,6 km, ena leska pa 15 m

DS7 Daljinsko zaznavanje z metodo hiperspektralnega slikanja z letalom za zgodnje odkrivanje okužb z FD

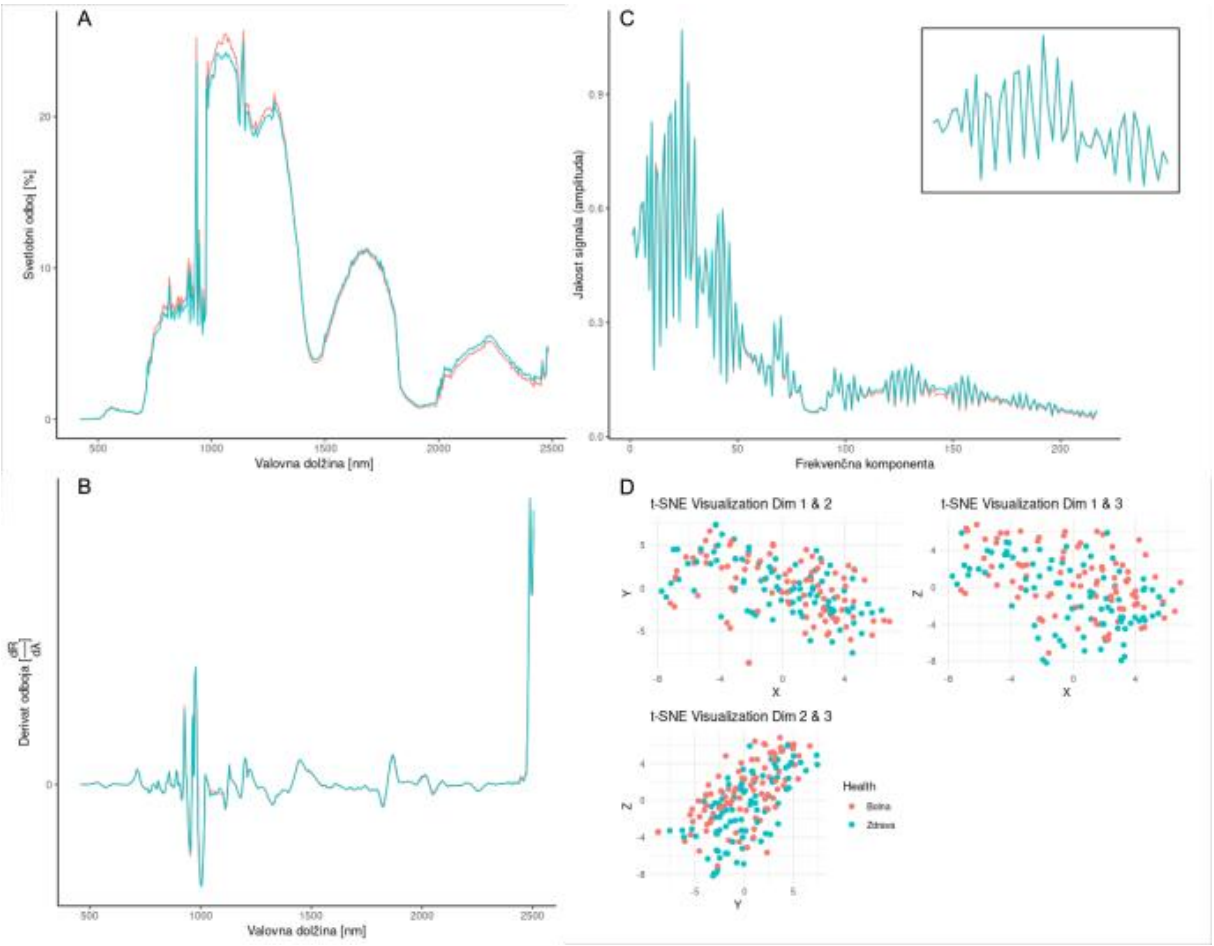
Predpriprava podatkov

Povprečni spektralni podpisi zdravih in bolnih rastlin so izkazali le manjše razlike, ki so bile izrazite predvsem v bližnjem infrardečem (NIR) in kratkovalovnem infrardečem (SWIR) delu spektra (Slika 19A). V vidnem območju (VIS) med skupinama nismo zaznali večjih odstopanj, kar kaže, da so spremembe, povezane z bolezenskimi procesi, bolj prisotne v strukturalno in vodno občutljivih valovnih območjih ter manj v pigmentno občutljivem VIS delu. Uporaba 2. derivatov s Savitzky–Golay glajenjem je dodatno poudarila razlike, zlasti v območju 700–1000 nm (t. i. "red-edge" in zgodnji NIR), kjer so se izkazale manjše spremembe naklonov in infleksijskih točk, ki v izvirnih (0. reda) spektrih niso bile jasno razvidne (Slika 19B).

Za nadaljnjo analizo smo uporabili hitro Fourierjevo transformacijo (FFT), ker pretvorba spektralnih krivulj v frekvenčno domeno omogoča kompaktno predstavitev glavnih trendov in periodičnih komponent spektra, obenem pa deloma loči koristne informacije od

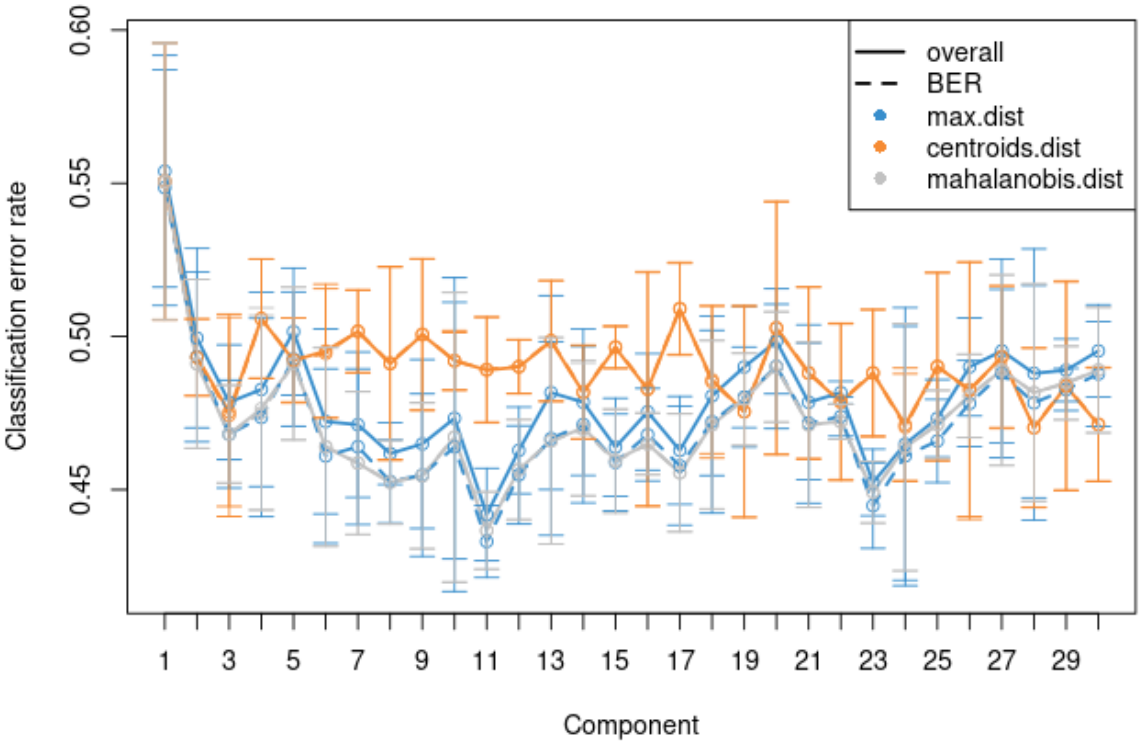
visokofrekvenčnega šuma. FFT olajša tudi zmanjšanje dimenzionalnosti in zmanjša medsebojno koreliranost sosednjih valovnih pasov, kar je ugodno za razvoj modelov strojnega učenja. Izbrali smo prvih 50 frekvenčnih komponent, ker nizkofrekvenčni koeficienti nosijo večino energije signala (opisujejo gladke, fiziološko relevantne trende), medtem ko višjefrekvenčni koeficienti večinoma predstavljajo šum in drobne lokalne variacije brez jasne biološke interpretacije. Takšen prirez ohrani ključne informacije, hkrati pa stabilizira modele in zmanjša nevarnost prenaučenosti (Slika 19C).

Podatki zdravih in bolnih rastlin se v t-SNE prostoru niso ločili v jasne, stabilne skupine, ne glede na preizkušene nastavitve in kombinacije t-SNE komponent. Tudi morebitni lokalni agregati niso bili stabilni po različnih naključnih začetkih, kar dodatno kaže na odsotnost robustne nelinearne strukture, ki bi ločevala skupine. Razlike med skupinama so majhne in verjetno porazdeljene po več valovnih območjih, zato zahtevajo nadzorovano ekstrakcijo značilk (npr. PLS) in nadaljnje klasifikacijske modele, medtem ko nenadzorovana t-SNE projekcija sama po sebi ne razkrije izrazite ločnice. Tak vzorec je skladen s prejšnjimi rezultati: razlike med skupinama so majhne in večinoma zajete v specifičnih valovnih območjih (NIR/SWIR), ne pa v celotni globalni strukturi spektra, ki jo t-SNE poskuša lokalno ohraniti. Poleg tega t-SNE kot nenadzorovana metoda ne uporablja informacij o razredu, zato lahko ostanejo razločevalni, a šibki signali skriti v znotraj-skupinski variabilnosti.



Slika 19: Združeni prikazi: (A) povprečni spektralni podpisi zdravih in bolnih rastlin – manjše razlike predvsem v NIR/SWIR, v VIS brez večjih odstopanj; (B) 2. derivati s Savitzky–Golay glajenjem, ki poudarijo razlike v območju 700–1000 nm; (C) amplitudni spekter po FFT z izrezom prvih 50 frekvenčnih komponent (okence) uporabljenih za nadaljnje analize; (D) t-SNE projekcija brez vidnih, stabilnih grupacij med skupinama.

Za redukcijo dimenzionalnosti in izračun značilk smo uporabili metodo delnih najmanjših kvadratov (Slika 20). Število latentnih spremenljivk (LV) v PLS neposredno vpliva na natančnost kasnejšega modela strojnega učenja, ker določa razmerje med zajeto informacijo in uvedenim šumom. Z majhnim številom LV-jev model pogosto podovrednoti (underfitting), saj del spektralne variance, ki je pomembna za razločevanje zdravih in bolnih rastlin, ostane nepojasnjen, zato so meje razreda plitve in napovedna točnost nižja. Z naraščanjem števila LV-jev se praviloma poveča natančnost in stabilizira meje med razredi. Po "komolčni" točki (najnižja napaka diskriminatne analize PLS) pa dodatni LV večinoma predstavljajo redundanco ali šum. Algoritem strojnega učenja se začne prilagajati naključnim nihajem (prenapriranje), poslabša se generalizacija in narašča variabilnost rezultatov med ponovitvami validacije. Gre za klasični kompromis, t. i. "prekletstvo dimenzionalnosti" pri omejenem številu vzorcev. Tak postopek daje SVM-ju kompakten, informativen vhod, ki maksimira natančnost in robustnost na novih (testni niz) podatkih.



Slika 20: Potek napake diskriminantne analize PLS skozi število LV-jev. Na osi X je število komponent, na osi Y pa povprečna stopnja napake s standardnim odklonom. Slednjo smo merili z tremi metrikami razdalj (največja razdalja, razdalja med centroidi, in Mahalanobisova razdalja). V prikazanem primeru smo izbrali 11 komponent. Pri 10 LV je povprečna natančnost slabša, standardni odklon pa večji, kar nakazuje slabšo stabilnost modela. Pri 23 LV je podoben rezultat, kot pri 10, vendar večje število komponent poveča verjetnost prevelikega prileganja modela podatkom (overfit).

Razvoj napovednih modelov

Rezultati kažejo dosledno boljšo ločljivost simptomov jeseni kot spomladi in zmeren do izrazit generalizacijski padec med učno (združeno obe leti in vsi vinogradi F1 = 0,721) in testno množico (združeno obe leti in vsi vinogradi F1 = 0,600). Padec je največji pri vinogradih z majhnim številom potrjenih primerov, kar nakazuje prenaučenost in visoko varianco. Vzorec po sezonah in znotraj posameznih vinogradov je podoben, jesenske vrednosti F1 so praviloma višje, relativni rang terminov se ohranja, absolutne vrednosti pa na testu padejo. To podpira

operativno tezo, da je jesenski prelet najprimernejši za referenčno kartiranje, spomladanski pa za zgodnje opozarjanje, ob nižji natančnosti.

Jesenske ocene presegajo spomladanske tako na učni kot na testni množici. To je pričakovano, saj so jeseni simptomi spektralno bolj kontrastni. Vinograd 3 kaže izrazit jesenski dvig na obeh sklopih (učni do 0,95; testni do 0,774), podobno 4 (učni ~0,80–0,816 jeseni; testni ~0,727 jeseni). Agregat "Skupaj pomlad" je pri večini vinogradov nižji na testu (npr. 1528147: 0,715 → 0,639), kar potrjuje omejitve zgodnjega zaznavanja brez posebnih prilagoditev. Lokaciji z majhnim številom podatkov (vinograda 2 in 4) na učni množici dosegata popolno natančnost (F1 = 1,0) v posameznih sezonah, kar se na testu normalizira na 0,667–0,857. Gre za tipičen učinek majhnih vzorcev in potencialno optimistično oceno zaradi prekrivnosti ali naključne razdelitve. Nasprotno pa vinogradi z večjim številom podatkov kažejo bolj stabilen sezonski vzorec in manj ekstremne vrednosti, vendar še vedno prisoten padec na testu (Tabela 7).

Tabela 7: F1-natančnosti klasifikacijskih modelov pri ločevanju zdravih in bolnih rastlin. Podani so rezultati na nizu za učenje in nizu za testiranje modelov. N: število podatkov; N train/N test: število podatkov v učnem in testnem nizu.

	vinograd	N	Pomlad 2023	Jesen 2023	Pomlad 2024	Jesen 2024	Skupaj pomlad
Niz za učenje	1	382	0.755	0.733	0.727	0.737	0.715
	2	48	1	1	1	1	0.971
	3	236	0.82	0.837	0.847	0.95	0.739
	4	284	0.8	0.816	/	0.792	0.792
	5	148	0.88	0.84	0.857	0.906	0.99
	6	222	0.847	0.86	/	0.923	/
	7	48	/	/	1	1	/
	Skupaj						0.721
		N train / N test					
Niz za testiranje	1	267/115	0.69	0.727	0.76	0.727	0.639
	2	34/14	0.667	0.8	0.857	0.75	0.714
	3	165/71	0.645	0.65	0.743	0.774	0.646
	4	199/85	0.696	0.727	/	0.727	0.612
	5	104/44	0.759	0.727	0.727	0.75	0.723
	6	155/67	0.686	0.82	/	0.762	/
	7	34/14	/	/	0.8	0.857	/
	Skupaj						0.6

Rezultati so v skladu z biološko in fenološko podlago zlate trsne rumenice. Jeseni so simptomi izrazitejši, zato je zaznavanje bolj zanesljivo. Zgodnje zaznavanje spomladi ostaja možno, vendar z nižjo natančnostjo, še posebej brez fenološke normalizacije in časovnih serij. Razkorak med učnimi in testnimi rezultati potrjuje, da razlike med lokacijami in sortami presegajo medletno variabilnost znotraj iste lokacije. Modeli, razviti na združenih podatkih, ki niso ozaveščeni o domenski strukturi (sorta/lokacija), se naučijo tudi neželene podpise okolja in sorte, kar znižuje prenosljivost. Spomladanski preleti so smiselni kot sistem zgodnjega zaznavanja, vendar je razmeroma zanesljivo določanje zlate trsne rumenice odvisno od sorte

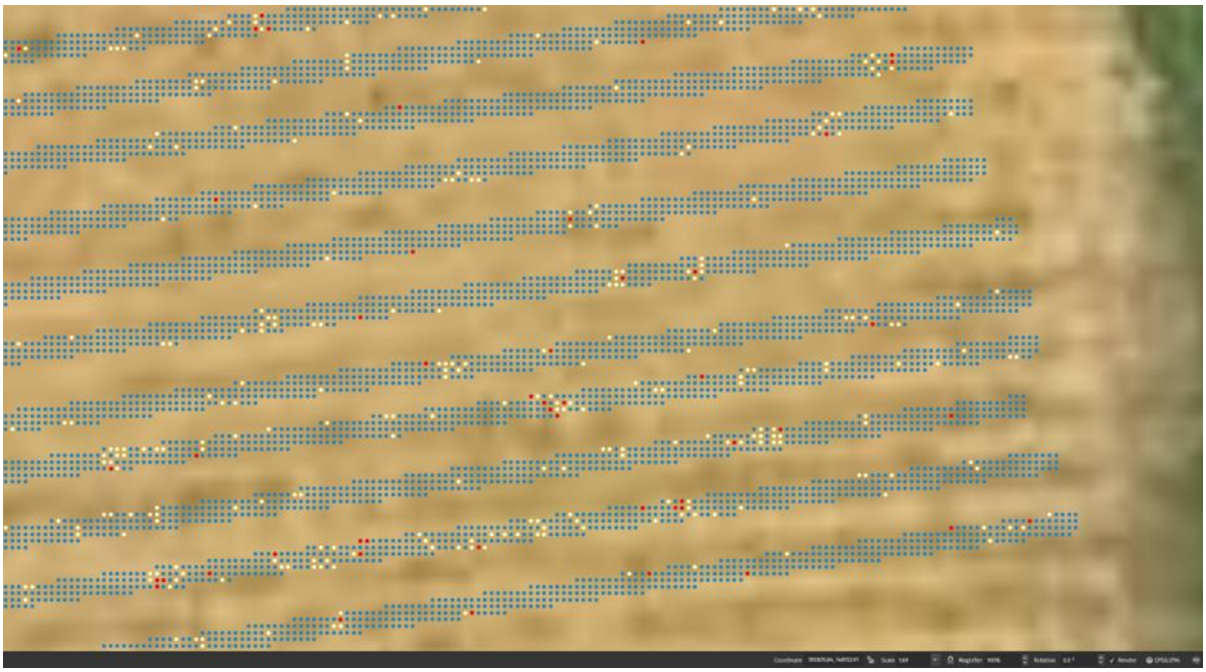
in lokacije, torej morajo biti modeli strojnega učenja temu prilagojeni. Jesenski preleti bi bili primerni za kartiranje okužb in usmerjanje fitosanitarnih ukrepov proti koncu sezone.

Vročinske karte

Vročinske karte prikazujejo prostorsko porazdelitev verjetnosti, da posamezna rastrska celica (angl. pixel) vsebuje okuženo rastlino (Slika 21, Slika 22). Barvna lestvica prehaja od nizkih verjetnosti (modro/zelene) prek mejnih (rumeno/oranžne, ~40–60 %) do visokih (rdeče, >61 %). Opazni so jasni skupki rdečih celic, ki označujejo žarišča povišanega tveganja, pogosto obdana z rastrskimi celicami z mejnimi verjetnostmi (40–60 %). Ta vzorec je skladen s prostorsko avtokorelacijo, okužbe se pojavljajo v lokalnih grozdih, medtem ko prehodni pasovi (rumena) nakazujejo robna območja žarišč ali mešanje zdravih in prizadetih rastlin.

Posamezne oziroma izolirane rastrske celice z višjo verjetnostjo se pogosto pojavijo ob robovih segmentiranih podatkov zaradi kombinacije robnih učinkov in mešanja signalov. Na mejah segmentov so piksli delno “mešani” med tarčno površino vinske trte in ozadjem (tla, listje sosednjih rastlin, žice opore), zato se njihov spektralni podpis razlikuje od homogenega notranjega dela segmenta. K temu prispevajo spremenjene razmere osvetlitve in sence na robovih krošenj, ki znižujejo razmerje signal/šum. Rezultat so “špičke” verjetnosti na posameznih pikslih ob mejah, kjer model zazna lokalne anomalije, ki niso nujno posledica dejanske okužbe, temveč posledica spektralnega mešanja in negotovosti na segmentnih robovih. Zato takšne izolirane celice interpretiramo previdno in jih vrednotimo v kontekstu sosednjih pikslov ter prostorske koherence celotnega segmenta.

Slika 21: Primer vročinske karte verjetnosti okužb. Višje verjetnosti okužb so pogostejše v severnem delu vinograda. Modra: verjetnost okužbe < 40 %. Rumena: 41–60 %. Rdeča: > 61 %.



Slika 22: Izrez in povečava vročinske karte. Jasno so vidne grupacije rastrskih celic, kjer je verjetnost okužbe višja. Modra: verjetnost okužbe < 40 %. Rumena: 41–60 %. Rdeča: > 61 %.

Razprava, zaključki in priporočila naročniku

Projekt FD-GamePlan je bil zasnovan kot odgovor na kompleksne izzive, ki jih v Sloveniji povzroča zlata trsna rumenica (FD), karantenska bolezen z velikim gospodarskim pomenom. Raziskovalni sklopi so bili izbrani na podlagi konkretnih potreb stroke, opaženih težav v praksi in pomanjkanja podatkov, ki so omejevali učinkovito obvladovanje bolezni.

V DS2 je bila pozornost usmerjena v preverjanje možnosti zgodnjega odkrivanja fitoplazme FD v preimaginalnih stadijih ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*). Razlog za to je bila potreba po zgodnejšem in zanesljivejšem odkrivanju okužb v vinogradih, saj se bolezen pogosto razširi še preden so vidni simptomi na rastlinah. Rezultati so pokazali, da je prisotnost fitoplazme v nimfah (L3–L5) zaznana le v majhnem deležu vzorcev (manj kot v primeru testiranja odraslih osebkov), zato testiranje teh stadijev ni zanesljivo za rutinsko zgodnje odkrivanje.

Naslednji raziskovalni sklop je bil usmerjen v razširitev znanja o drugih možnih prenašalcih fitoplazme FD in njihovi prisotnosti v Sloveniji. Ta odločitev je izhajala iz opažene pestrosti škržatkov na terenu ter iz literature, ki je nakazovala, da poleg ameriškega škržatka obstajajo še druge vrste, ki bi lahko prispevale k širjenju bolezni. Sistematičen monitoring populacij škržatkov na štirih reprezentativnih lokacijah je razkril relativno visoko vrstno pestrost, vendar je izstopala predvsem vrsta *Orientus ishidae*, ki je bila najpogostejša v nasadih lesk in robni vegetaciji. V vinogradih je bil ulov škržatkov na rumenih lepljivih ploščah splošno precej skromnejši kot v nasadih lesk in robni vegetaciji: prevladoval je ameriški škržatek, *O. ishidae* je bil tudi prisoten, a bistveno manj kot v nasadih lesk, kar kaže na specifične ekološke preference posameznih vrst. Poudariti je potrebno, da smo monitoring izvajali zgolj z rumenimi lepljivimi ploščami, zato naši rezultati ne odražajo nujno dejanske strukture populacij, saj se različne vrste različno odzivajo na pasti – podatki, ki smo jih zbrali so zato le približna, a vseeno dobra orientacija.

Na zastopanost in številčnost populacije različnih vrst škržatkov zagotovo vpliva tudi struktura robne vegetacije, ki ima pomembno vlogo predvsem pri ohranjanju polifagnih vrst (*Orientus ishidae , Anoplotettix fuscovenosus, Phlogotettix cyclops, Fieberiella florii*), ki od tu lahko nato migrirajo v nasade lesk ter vinograde. Iz podatkov, ki smo jih zbrali v okviru tega projekta, je mogoče sklepati tudi na precejšnjo mobilnost ameriškega škržatka, zlasti samcev, ki smo jih pogosto odkrili na rumenih lepljivih ploščah v robnih habitatih. Na primer, na lokaciji Ilovci smo v mejici leskovega nasada zabeležili kar 58 osebkov ameriškega škržatka, kar nakazuje, da ti habitati lahko predstavljajo pomembne koridorje ali začasna zatočišča. To odpira tudi vprašanje o morebitni navzočnosti zapuščenih trsov ali podlag v mejicah, ki bi lahko služili kot dodatni vir okužbe ali kot vmesni gostitelji v epidemiološki verigi širjenja FD.

V naslednjem sklopu je bila pozornost usmerjena v oceno okuženosti različnih vrst škržatkov – možnih prenašalcev FD, z namenom, da se oceni njihova morebitna vloga pri prenosu fitoplazme iz alternativnih gostiteljev na trto in med leskami. Analize so pokazale, da je bila najvišja stopnja okuženosti s fitoplazmo 16SrV ugotovljena pri *O. ishidae*. Prisotnost fitoplazme iz skupine 16SrV je bila potrjena tudi pri posameznih vzorcih drugih vrst škržatkov (*Anoplotettix fuscovenosus, Phlogotettix cyclops, Allygus modestus*), kar nakazuje, da imajo te vrste verjetno omejeno vlogo pri širjenju bolezni, a jih ni mogoče povsem izključiti iz epidemiološke slike.

Analize vzorcev lesk, ki smo jih izvedli v okviru tega projekta, sicer niso dokazale, da bi bile leske zelo pomemben rezervoar za prenos FD na trto, saj smo fitoplazmo iz skupine 16SrV v vzorcih odvzetih v okviru tega projekta potrdili le izjemoma in v nizki koncentraciji. Kljub temu

pa je pomembno pogledati širšo sliko, ki vključuje tudi rezultate iz preteklih let, ko smo v leskah našli precej več okužb s to fitoplazmo. V preteklosti smo v leskah potrdili genotipe fitoplazme 16SrV, ki jih zasledimo tudi na trti, kot so M38, M50 in M122, in za katere je znano, da jih ameriški škržatek lahko učinkovito prenaša in da lahko povzročijo v vinogradih epifitocije. Te genotipe fitoplazme 16SrV smo odkrili tudi v vzorcih *O. ishidae*. Ti genotipi so sicer na trti v Sloveniji manj pogosti kot genotip M54, a njihova prisotnost v obeh gostiteljih in tudi v *O. ishidae* kaže, da leske lahko delujejo kot rezervoar genetske raznolikosti fitoplazem.

Pridobljeni podatki o bionomiji vzhodnjaškega škržatka – o pojavljanju in dolžini razvoja preimaginalnih stadijev ter sezonski dinamiki odraslih osebkov so ključni za načrtovanje ukrepov zatiranja in za razumevanje možnosti prenosa fitoplazme med leskami in na trto. Doslej izvedeni poskusi še niso potrdili prenosa fitoplazme FD z vzhodnjaškim škržatkom iz okuženih leskovih nasadov na trto ali druge leske, kar je verjetno posledica omejenega števila prenesenih osebkov in nizkega deleža okuženih škržatkov, ki smo jih do sedaj vnesli v poskusne mrežnike. Kljub temu pridobljeni rezultati predstavljajo pomembno osnovo za nadaljnje raziskave, za katere pa potrebujemo daljše obdobje izvajanja in bolj ciljno časovno in lokacijsko izbiro lovljenja škržatkov.

Na področju zatiranja vzhodnjaškega škržatka je bila raziskava usmerjena v pregled možnosti uporabe insekticidov. Ugotovljeno je bilo, da so trenutno registrirani insekticidi za uporabo v nasadih lesk (npr. piretrin, deltametrin) lahko učinkoviti, vendar je za sistemično zatiranje potrebna formalna razširitev uporabe in dodatne raziskave o učinkovitosti ter skladnosti z regulativo.

Raziskave daljinskega zaznavanja z letalskim hiperspektralnim slikanjem so bile vključene kot odgovor na potrebo po metodah, ki omogočajo zgodnje, prostorsko natančno in objektivno zaznavanje okužb na večjih vinogradniških površinah. Klasični terenski pregledi so namreč omejeni zaradi obsežnosti površin, omejenih človeških virov ter časovnih in finančnih omejitev. Naši rezultati potrjujejo, da je hiperspektralno slikanje ob ustrezni metodološki zasnovi obetavna podlaga za zgodnje odkrivanje okužb z zlato trsno rumenico. Ključni elementi so skrbna predobdelava podatkov, PLS-podprta redukcija dimenzionalnosti in učenje, ki upošteva sezonske ter lokacijske značilnosti, saj se s tem doseže večja zanesljivost modelov. Analize so pokazale, da je odkrivanje okuženih rastlin bistveno zanesljivejše jeseni, ko so spektralni kontrasti simptomov izrazitejši, medtem ko je spomladansko opozarjanje možno, a manj natančno in občutljivejše na domenske učinke. Spektralne razlike med zdravimi in bolnimi rastlinami so majhne in skoncentrirane predvsem v območju NIR/SWIR, zato so za izluščenje subtilnih razlik potrebne napredne transformacije, kot so derivati 2. reda in Fourierjeva analiza, ki zmanjšata šum in redundanco. Nenadzorovane metode, kot je t-SNE, niso pokazale jasne ločitve med skupinama, zato je za robustno napoved nujna nadzorovana ekstrakcija značilk (PLS) z uravnoteženim številom latentnih spremenljivk, da se prepreči prenaučenost. Vročinske karte so potrdile prostorsko avtokorelacijo z žarišči višjih verjetnosti okužb, vendar je posamezne piksle z visokimi vrednostmi, zlasti ob robovih segmentov, treba interpretirati previdno zaradi možnega spektralnega mešanja. V praksi bi jesenski preleti lahko služili kot referenčno kartiranje in podlaga za usmerjene ukrepe, spomladanski pa kot orodje za zgodnje opozarjanje ob zavedanju večje negotovosti.

Zaključki:

- Prisotnost fitoplazme FD v preimaginalnih stadijih ameriškega škržatka je bila potrjena le v manjšem deležu vzorcev, zato ta pristop ni primeren za rutinsko zgodnje odkrivanje okužb.
- Najpomembnejši prenašalec fitoplazme povzročiteljice zlate trsne rumenice med trtami je ameriški škržatek (*Scaphoideus titanus*). Pomembno vlogo pri prenosu teh

fitoplazem ima zelo verjetno tudi vzhodnjaški škržatek (*Orientus ishidae*), ki je v nasadih lesk, pa tudi v robni vegetaciji zelo pogost. Vloga drugih možnih prenašalcev fitoplazme povzročiteljice zlate trsne rumenice je verjetno omejena, a jih ni mogoče povsem izključiti iz epidemiološke slike.

- Glede na rezultate pridobljene v projektu, ne moremo trditi, da so leske ključni izvor težav z zlato trsno rumenico v slovenskem vinogradništvu, Kljub temu pa lahko predstavljajo rezervoar genetske raznolikosti teh fitoplazem.
- Prenos fitoplazme povzročiteljice zlate trsne rumenice z vzhodnjaškim škržatkom iz leske na trto in med leskami v eksperimentih še ni bil potrjen, kar je verjetno posledica omejenega števila prenesenih osebkov in nizkega deleža okuženih škržatkov vključenih v poskus.
- Trenutno so na voljo nekateri insekticidi, ki vsebujejo aktivno snov piretrin, deltametrin, ki so dovoljeni za uporabo v nasadih lesk za zatiranje drugih škodljivcev in bi lahko imeli učinek na vzhodnjaškega škržatka (*O. ishidae*), vendar je za sistematično zatiranje potrebna formalna razširitev uporabe in dodatne raziskave o učinkovitosti na vzhodnjaškega škržatka ter skladnosti z regulativo.
- Letalsko hiperspektralno slikanje je obetavna metoda za zgodnje in prostorsko natančno zaznavanje okužb z zlato trsno rumenico. Odkrivanje okuženih rastlin je bistveno zanesljivejše jeseni, spomladansko zaznavanje pa je možno, a manj natančno in občutljivejše na domenske učinke. Za robustno napoved je nujna napredna obdelava podatkov in prilagoditev modelov glede na sorto in lokacijo.

Priporočila:

1. **Diagnostika in monitoring zlate trsne rumenice (FD)**

- Ohraniti in nadgraditi rutinsko spremljanje ameriškega škržatka (*Scaphoideus titanus*) kot glavnega vektorja FD – testiranje preimaginalnih stadijev (L3–L5) ni zanesljivo za zgodnje odkrivanje okužb, zato naj ostane v ospredju monitoring odraslih osebkov in laboratorijska potrditev okužb skladno z EPPO PM7/079(2) (analize na vzorcih trt in odraslih osebkov ameriškega škržatka).

- Razširiti monitoring na druge potencialne vektorje, predvsem vzhodnjaškega škržatka (*Orientus ishidae*), zlasti v nasadih lesk in robni vegetaciji, kjer je ta vrsta najpogostejša. Priporočamo vključitev sistematičnega spremljanja populacij in okuženosti *O. ishidae* s fitoplazmo povzročiteljico FD v nacionalni program varstva rastlin.

- Pri potrjevanju novih žarišč okužb vedno izvesti karakterizacijo izolatov fitoplazem 16SrV (analiza gena map), saj je to ključno za razumevanje epidemiologije in usmerjanje ukrepov.

2. **Upravljanje z rezervoarji okužb**

- Leske (*Corylus avellana*) v bližini vinogradov niso ključni vir okužb, lahko pa predstavljajo rezervoar genetske raznolikosti fitoplazem. Priporočamo, da se odstranjevanje ali obsežno zatiranje lesk ne izvaja rutinsko, temveč le na podlagi potrjenih okužb in v povezavi z epidemiološko situacijo.

- Robna vegetacija (srobot, jelša, pajesen) naj se obravnava kot potencialni vir okužb – priporočamo redno pregledovanje in po potrebi odstranjevanje okuženih rastlin v neposredni bližini vinogradov. Enako velja za opuščene vinograde in brajde.

3. **Zatiranje vektorjev in fitosanitarni ukrepi**

- Uporaba insekticidov v vinogradih naj ostane usmerjena v ameriškega škržatka, z upoštevanjem optimalnega časa tretiranja na podlagi monitoringa populacij škržatka.
- Za zatiranje vzhodnjaškega škržatka v nasadih lesk (če bo njegova vloga kot prenašalca fitoplazme 16SrV med leskami in/ali z lesk na trto potrjena) priporočamo pilotne poskuse z dovoljenimi insekticidi (piretrin, deltametrin) in spremljanje učinkovitosti. Priporočamo, da MKGP podpre postopke za razširitev dovoljenih aktivnih snovi (npr. acetamiprid) za uporabo na leskah, če bodo rezultati pilotnih poskusov pozitivni.
- Vse ukrepe izvajati skladno z nacionalno in EU regulativo ter načeli integriranega varstva rastlin.

4. Daljinsko zaznavanje in digitalizacija nadzora

- Podpreti nadaljnji razvoj, validacijo modelov na različnih sortah in lokacijah ter implementacijo hiperspektralnega slikanja kot dopolnilne metode za zgodnje in prostorsko natančno zaznavanje okužb z FD.

5. Priporočila za nadaljnje raziskave in razvoj

- Nadaljevati raziskave prenosa fitoplazme FD z vzhodnjaškim škržatkom iz leske na trto in med leskami, saj dosedanji poskusi še niso potrdili prenosa, a epidemiološki potencial ostaja.
- Podpreti implementacijo hitrih, robustnih in validiranih molekularnih testov za detekcijo fitoplazme FD, kot je npr. LAMP test, ki smo ga na NIBu že razvili. Takšni testi omogočajo zanesljivo zaznavo okužb neposredno na terenu in bi jih lahko samostojno uporabljali vinogradniki ali fitosanitarni pregledniki. S tem bi bistveno pospešili zgodnje odkrivanje in odzivanje na pojav bolezni v vinogradih ter povečali učinkovitost fitosanitarnega nadzora.
- Spodbujati izmenjavo podatkov in sodelovanje med raziskovalnimi institucijami, UVHVVR in pridelovalci, z namenom hitrega prenosa znanja v prakso.

Bibliografski in drugi doseženi rezultati projektne skupine

Cilje in rezultate tega projekta smo predstavili na številnih **domačih strokovnih srečanjih/ konferencah**:

- Predavanje **na strokovnem posvetu Slovenskega strokovnega društva lupinarjev**, 11.3.2023: Propadanje lesk v Sloveniji zaradi okužbe s fitoplazmo, sorodno povzročiteljici zlate trsne rumenice (KOGEJ ZWITTER Zala, SELJAK Gabrijel, JAKOMIN Tjaša, BRODARIČ Jakob, VUČUROVIĆ Ana, MEHLE Nataša)
- Predavanje **na Lombergarjevih dnevih - 15. Vinogradniški posvet z mednarodno udeležbo**, 6.12.2023: Stanje zlate trsne rumenice v SV Sloveniji (LEŠNIK Leonida, MIKLAVC Jože, MATKO Boštjan, MEŠL Miro, ŠKRABAR Urška, VEBER Rok, BREZNIK Marko, VOGLAR Žan, ŠUVAK Andrej)
- Predstavitve **na 16. slovenskem posvetovanju o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo**, Bohinjska Bistrica, 5.-6.3.2024:
    - Poster: Usmeritve dela v okviru CRP projekta »Ukrepi za preprečevanje nadaljnjega širjenja zlate trsne rumenice« (Nataša MEHLE, Magda RAK CIZEJ, Franček POLIČNIK, Mojca ROT, Gabrijel SELJAK, Ivan ŽEŽLINA, Jože MIKLAVC, Leonida LEŠNIK, Miroslav MEŠL, Boštjan MATKO, Urška ŠKRABAR, Rok VEBER, Uroš ŽIBRAT, Matej KNAPIČ, Andrej VONČINA, Zala Kogej Zwitter, Irena BAJDE, Jakob BRODARIČ, Ana VUČUROVIĆ, Erika OREŠEK)
    - Predavanje: Ugotavljanje razširjenosti škržatkov (Hemiptera: Cicadellidae) – potencialnih prenašalcev fitoplazme Grapevine Flavescence Doree (FD) v nasadih leske in vinogradih ter njihovi okolici (Mojca ROT, Ivan ŽEŽLINA, Nataša MEHLE, Magda RAK CIZEJ, Franček POLIČNIK, Alenka FERLEŽ RUS, Jože MIKLAVC, Leonida LEŠNIK, Gabrijel SELJAK)
- KGZS – Zavod MB je v letu 2024 izvedel na celotnem območju SV dela Slovenije **delavnice o zlati trsni rumenici in predavanja o varstvu vinske trte (skupno 13).** Na teh delavnicah in predavanjih so bili med drugim predstavljeni tudi rezultati tega projekta.
- Predavanje **na strokovnem sestanku na UVHVVR** na temo zlate trsne rumenice, 11.11.2024 (MEHLE Nataša)
- KGZS – Zavod MB je tudi v letu 2025 izvedel **predavanja na temo Varstvo vinske** trte v katera so bili vključeni tudi rezultati tega projekta:
    - Slovenska Bistrica, 13.2.2025
    - Pernica, 25.2.2025
    - Juršinci, 6.3.2025
- KGZS-NG (Ivan ŽEŽLINA) je rezultate tega projekta vključil v **predavanja za vinogradnike**:
    - Goriška Brda, dvorana Vinske kleti, Dobrovo, 18.2.2025
    - Kras, OŠ, Dutovlje, 12.3.2025
    - Vipavska dolina, OŠ, Ajdovščina, 13.3.2025
    - Vipavska dolina, Bilje, 20.3.2025
- Predavanje **na strokovnem posvetu Slovenskega strokovnega društva lupinarjev**, 15.3.2025: Fitoplazme in leske: aktualne raziskave in nove ugotovitve (MEHLE Nataša, BRODARIČ Jakob, BAJDE Irena, JAKOMIN Tjaša, KOGEJ ZWITTER Zala, VUČUROVIĆ Ana, MUKHINA Katerina, DARIŽ Julija, ROT Mojca, SELJAK Gabrijel, ŽEŽLINA Ivan, ŽEŽLINA Jan, RAK CIZEJ Magda, POLIČNIK Franček, LACROIX Octave, FERLEŽ RUS Alenka, LEŠNIK Leonida, MEŠL Miro, VEBER Rok, PRELOŽNIK Anja, ŠKRABAR Urška, MIKLAVC Jože)

Predstavitve izvedene na mednarodnih strokovnih srečanjih:

- 10.5.2023 v **Zagrebu** na strokovnem posvetu **»Technical consultation on „Grapevine flavescence dorée and *Scaphoideus titanus*«**, predavanje: Genetic diversity of 16SrV phytoplasma infecting grapevines and hazelnuts in Slovenia (MEHLE Nataša, KOGEJ ZWITTER Zala)
- 9.4. 2024 v **Ljubljani** na **GFD follow-up meeting - Technical consultation on Grapevine flavescence dorée and *Scaphoideus titanus***; predavanja:
  - Diversity and abundance of leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae) – potential vectors of grapevine flavescence dorée phytoplasma (FDp) in hazelnut orchards and vineyards and their vicinity (ROT Mojca, ŽEŽLINA Ivan, MEHLE Nataša, RAK CIZEJ Magda, POLIČNIK Franček, FERLEŽ RUS Alenka, MIKLAVC Jože, LEŠNIK Leonida, SELJAK Gabrijel)
  - Diversity of map genotypes of Grapevine Flavescence dorèe phytoplasma in Slovenian vineyards (MEHLE Nataša, KOGEJ ZWITTER Zala, BAJDE Irena, BRODARIČ Jakob, VUČUROVIĆ Ana)
- 14-16.5.2024, **Bordeaux, Francija - 6th European Bois Noir Workshop and 1st International Pro-AECOGY Conference, Towards the Prophylactic and Agroecological Control of grapevine yellows**: Grapevine Flavescence dorée phytoplasma map genotypes associated with outbreaks in Slovenian vineyards (MEHLE Nataša, KOGEJ ZWITTER Zala, BAJDE Irena, BRODARIČ Jakob, VUČUROVIĆ Ana)
- 27.11.2024 na **IX. MEDARODNEM kongresu o varstvu rastlin, Zlatibor, Srbija** (IHPS)
- 3.4.2025 na mednarodnem srečanju **GFD (Dunaj, Ages): Flavescence dorée phytoplasma**: Detection in juvenile *Scaphoideus titanus* and infection analysis of alternative vectors (MEHLE Nataša, BRODARIČ Jakob, BAJDE Irena, JAKOMIN Tjaša, KOGEJ ZWITTER Zala, VUČUROVIĆ Ana, MUKHINA Katerina, DARIŽ Julija, ROT Mojca, SELJAK Gabrijel, ŽEŽLINA Ivan, RAK CIZEJ Magda, POLIČNIK Franček, LACROIX Octave, FERLEŽ RUS Alenka, MEŠL Miro, VEBER Rok, PRELOŽNIK Anja, ŠKRABAR Urška, LEŠNIK Leonida)

Vpetost v izobraževalni proces študentov:

- Problematiko fitoplazem na vinski trti, vključno s cilji in namenom tega projekta smo predstavili **študentom vinarstva in vinogradništva na Univerzi v Novi Gorici** v okviru predavanj za:
  - **Patologija rastlin** (nosilka predmeta Nataša MEHLE)
  - **Moderni pristopi v patologiji in varstvu rastlin** (nosilka predmeta Nataša MEHLE)
- Del rezultatov tega projekta je bil uporabljen tudi za pripravo **dveh diplomskih nalog** študentk vinogradništva in vinarstva Univerze v Novi Gorici
  - ANNENKOVA Kseniia (mentor: Nataša MEHLE): Host plants and vectors of grapevine Flavescence dorée phytoplasma (leto zagovora: 2024)
  - MUKHINA, Katerina (mentor: Nataša MEHLE): Preverjanje prisotnosti fitoplazme, povzročiteljice zlate trsne rumenice, v škržatkih (naloga v izdelavi; predvideno leto zagovora 2025)
- V naloge projekta je bila **vključena tudi doktorska študentka** Zala KOGEJ ZWITTER (mentor: Nataša MEHLE; naloga v izdelavi; predvideno leto zagovora 2026)

Plan diseminacija po koncu projekta:

- 28.11.2025 - javna predstavitev rezultatov projekta (v dvorani na KGZS, Gospodinjska ulica 6, Ljubljana)

- priprava dveh strokovnih/znanstvenih člankov: en na temo bionomije in en na temo potencinalnih prenašalcev in detekcije v larvah (plan za oddajo: 2026)
- Predstavitve na 17. slovenskem posvetovanju o varstvu rastlin (marec 2026)