

Spremljanje koncentracije askospor glive *Eutypella parasitica*

Monitoring the Concentration of *Eutypella parasitica* Ascospores

Tine HAUPTMAN^{1,2,*}**Izvleček:**

Gliva *Eutypella parasitica* izvira iz Severne Amerike in povzroča bolezen, imenovano javorov rak. V Sloveniji so jo prvič našli leta 2005, zdaj je razširjena po vsej državi, izkoreninjenje boleznin ni več mogoče. Da bi preprečili nadaljnje širjenje boleznin in zmanjšali število novih okužb, je treba okužena drevesa posekati. Pri tem velja navodilo, da okuženi del debla izrežemo vsaj 50 cm nad rano in pod njo, izrezani del pa nato na mestu sežgemo ali pa položimo na gozdna tla tako, da je rakava rana usmerjena proti tlom. Učinkovitost slednjega ukrepa smo želeli preverjati s spremljanjem koncentracij askospor glive *E. parasitica* v zraku, pred izvedenim ukrepom in po njem. Spremljanje ni bilo uspešno, tako da učinkovitosti ukrepa ne moremo potrditi. V prispevku predstavljamo metode spremljanja in razpravo o morebitnih razlogih za neuspešno lovljenje askospor glive *E. parasitica*.

Ključne besede: javorov rak, *Eutypella parasitica*, monitoring, volumetrični vzorčevalnik, Slovenija

Abstract:

Fungus *Eutypella parasitica* originates in North America and causes a disease called Eutypella canker of maple. In Slovenia, it was found for the first time in the year 2005; now it is spread in the whole country and the disease cannot be rooted out anymore. To prevent further spread of the disease and reduce the number of new infections, the infected trees must be cut down. Thereby, the valid instruction requires the infected part of the trunk should be cut out at least 50 cm above and under the wound and that the cut-out part should be burned on the spot or laid on the forest soil in such a way that the canker wound is facing the soil. We wanted to test the effectiveness of the latter measure by monitoring the ascospores of the *E. parasitica* fungus concentration in the air before the performed measure and after it. Monitoring was not successful; thus, we cannot confirm the effectiveness of this measure. In the article, we present our monitoring methods and discussion about possible reasons for unsuccessful catching of the *E. parasitica* fungus ascospores.

Key words: Eutypella canker of maple, *Eutypella parasitica*, monitoring, volumetric sampler, Slovenia

1 UVOD

Gliva *Eutypella parasitica* R. W. Davidson & R. C. Lorenz najverjetneje izvira iz Severne Amerike, in sicer z območij v okolici Velikih jezer. V Sloveniji so jo prvič našli leta 2005 (Jurc in sod., 2006). Omenjena najdba je pomenila prvo najdbo javorovega raka v Evropi. Glede na velikosti rakavih ran in hitrost razraščanja glive po gostitelju pa predvidevamo, da je bila gliva k nam zanesena že pred letom 1960 (Brglez in sod., 2018). Doslej so okužbe z javorovim rakom odkrili tudi v nekaterih drugih evropskih državah: Avstrija, Češka, Hrvaška, Italija, Madžarska, Nemčija, Poljska in Slovenija (EPPO, 2020).

Gliva povzroča bolezen, imenovano javorov rak. Je parazit ran, saj svojega gostitelja najpogosteje okuži skozi odmrlo vejo ali poškodbo na deblu;

povzroči razvoj rakavih ran. Debla so na mestih okužb deformirana in tehnično razvrednotena. Gliva *E. parasitica* v svojem gostitelju napreduje relativno počasi, zato starejše drevje lahko z okužbo živi več desetletij, okuženo mlajše drevje pa navadno hitro propade. Ker ima gliva sposobnost razgradnje lesa (Brglez in sod., 2020), je zmanjšana mehanska stabilnost okuženih dreves in se na mestih okužb zaradi vpliva drugih dejavnikov (npr. veter, sneg, žled) pogosto prelomijo. Gliva *E. parasitica* lahko okuži različne vrste javorov (*Acer* spp.). V Sloveniji jo najpogosteje odkrijemo na gorskem javorju (*A. pseudoplatanus* L.) in maklenu (*A. campestre* L.), redkeje na ostrolistnem javorju (*A. platanoides* L.), našli pa smo jo tudi na nekaterih tujerodnih vrstah javorov (Ogris in sod., 2005; Jurc, 2008; Brglez in sod., 2018).

¹ Gozdarski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo gozdov, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, Slovenija

² Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire, Večna pot 83, 1000 Ljubljana, Slovenija

* dopisni avtor: tine.hauptman@bf.uni-lj.si

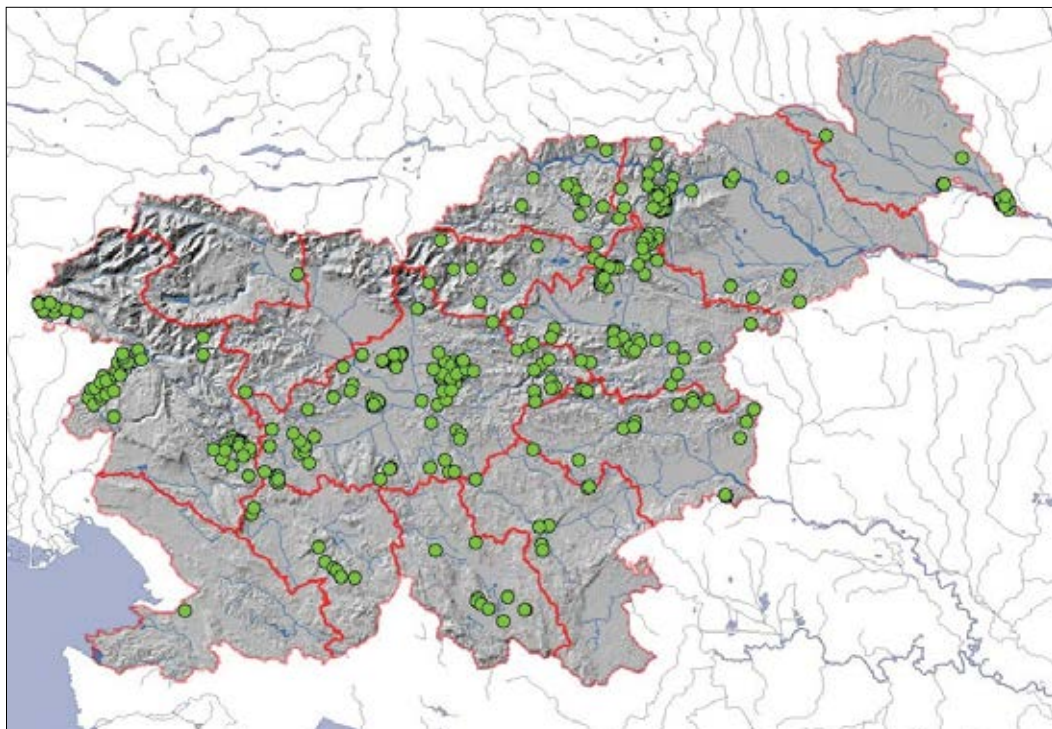
Gliva *E. parasitica* je razširjena praktično po vsej Sloveniji (slika 1). Izkoreninjenje bolezni zato ni mogoče, vseeno pa moramo ukrepati, da preprečimo njeno nadaljnje širjenje in zmanjšamo število novih okužb (Ogris in sod., 2005; Jurc, 2008; Brglez in sod., 2018). Najpomembnejši ukrep je odkrivanje okuženih dreves in njihov posek. V Sloveniji v zadnjih letih potekata intenzivno iskanje in sečnja okuženih dreves. Sprva je iskanje javorovih rakov potekalo predvsem v sklopu del javne gozdarske službe, projekt LIFE Artemis pa je v akcijo vključil tudi širšo javnost. Na spletnem portalu Invazivke (Ogris, 2020), kamor lahko sporočamo najdbe različnih tujerodnih organizmov, je bilo tako do 22. 12. 2020 zabeleženih 452 javorovih rakov.

Drevesa z javorovim rakom je treba posekati. Okuženi del debla je treba izrezati vsaj 50 cm nad rano in pod njo, izrezani del pa nato na mestu sežgati ali pa položiti na gozdna tla tako, da je rakava rana usmerjena proti tlom (Ogris,

2012). Tako preprečimo nadaljnje širjenje spor glive. Ena od nalog projekta LIFE Artemis je bila preveriti učinkovitost slednjega ukrepa, in sicer s spremljanjem koncentracij askospor glive *E. parasitica* v zraku, pred izvedenim ukrepom in po njem. V nadaljevanju prispevka predstavljamo metode in ugotovitve spremljanja.

2 METODE SPREMLJANJA

Koncentracijo askospor v zraku smo spremljali z volumetričnim vzorčevalnikom tipa Hirst (slika 2) (naprava je dobila ime po rastlinskem patologu dr. Jamesu Hirstu, ki je leta 1952 zasnoval prvo napravo tega tipa), proizvajalca Lanzoni (Italija). Tak vzorčevalnik se najpogosteje uporablja za spremljanje koncentracije pelodnih zrn in trosov gliv v zraku ter onesnaženosti zraka. Naprava aktivno črpa zrak s pretokom 10 l/min. Glava vzorčevalnika je opremljena s krmilno lopatico, zaradi katere je odprtina za dotok zraka vedno usmerjena proti vetru. Mikrodelci v



Slika 1: Lokacije javorovih rakov, Invazivke – Osrednji elektronski informacijski sistem za invazivne tujerodne vrste v Sloveniji, www.invazivke.si. Gozdarski inštitut Slovenije, LIFE ARTEMIS (LIFE15 GIE/SI/000770) (22. 12. 2020)

zraku, ki skozi odprtino za dotok zraka vstopijo v napravo, se odlagajo na poseben trak, ki je premazan s silikonskim gelom in je nameščen na vzorčevalnem valju v notranjosti naprave. Valj se enakomerno vrti s hitrostjo 2 mm/h, tako da omogoča spremljanje dnevne dinamike pojavljanja trosov gliv v zraku. Pri spremljanju koncentracije askospor glive *E. parasitica* smo po vzorčenju na terenu iz vrtilnega valja odstranili trak, na katerega so se odlagali mikrodelci v zraku, ga razrezali na 48 mm dolge dele (en tak trak je predstavljal 24-urno spremljanje), ki smo jih nato analizirali v mikroskopirnici Laboratorija za varstvo gozdov GIS.

Spremljanje je potekalo na treh lokacijah: Vesca (GKY: 462591; GKX: 112231), Moravče (GKY: 479599; GKX: 110767) in Rova (GKY: 473109; GKX: 114556). Na lokaciji Moravče smo koncentracijo askospor spremljali samo v letu 2019, na lokaciji Rova v letu 2020, na lokaciji Vesca pa v obeh omenjenih letih. Na vseh treh lokacijah smo vzorčevalnik postavili v neposredno bližino drevesa z javorovim rakom (slika 2). Pri postavitvi

smo morali paziti, da je bil vzorčevalnik nameščen povsem vodoravno, sicer se glava vzorčevalnika ne bi obračala v smeri vetra. Volumetrični vzorčevalnik, ki smo ga uporabljali v naši raziskavi, je bil opremljen z dvema solarnima paneloma. Tako napajanje za uporabo v gozdu ni najprimernejše, saj je težko zagotoviti zadostno osvetljenost. Temu primerno pa v nobenem primeru vzorčevalnik ni deloval več kot 48 ur. Spremljanje smo tako večkrat ponovili. V letu 2019 smo večdnevna spremljanja izvedli v avgustu in septembru, v letu 2020 pa julija in avgusta. V vseh primerih smo vzorčevalnik na terenu namestili po krajšem ali daljšem deževnem obdobju.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

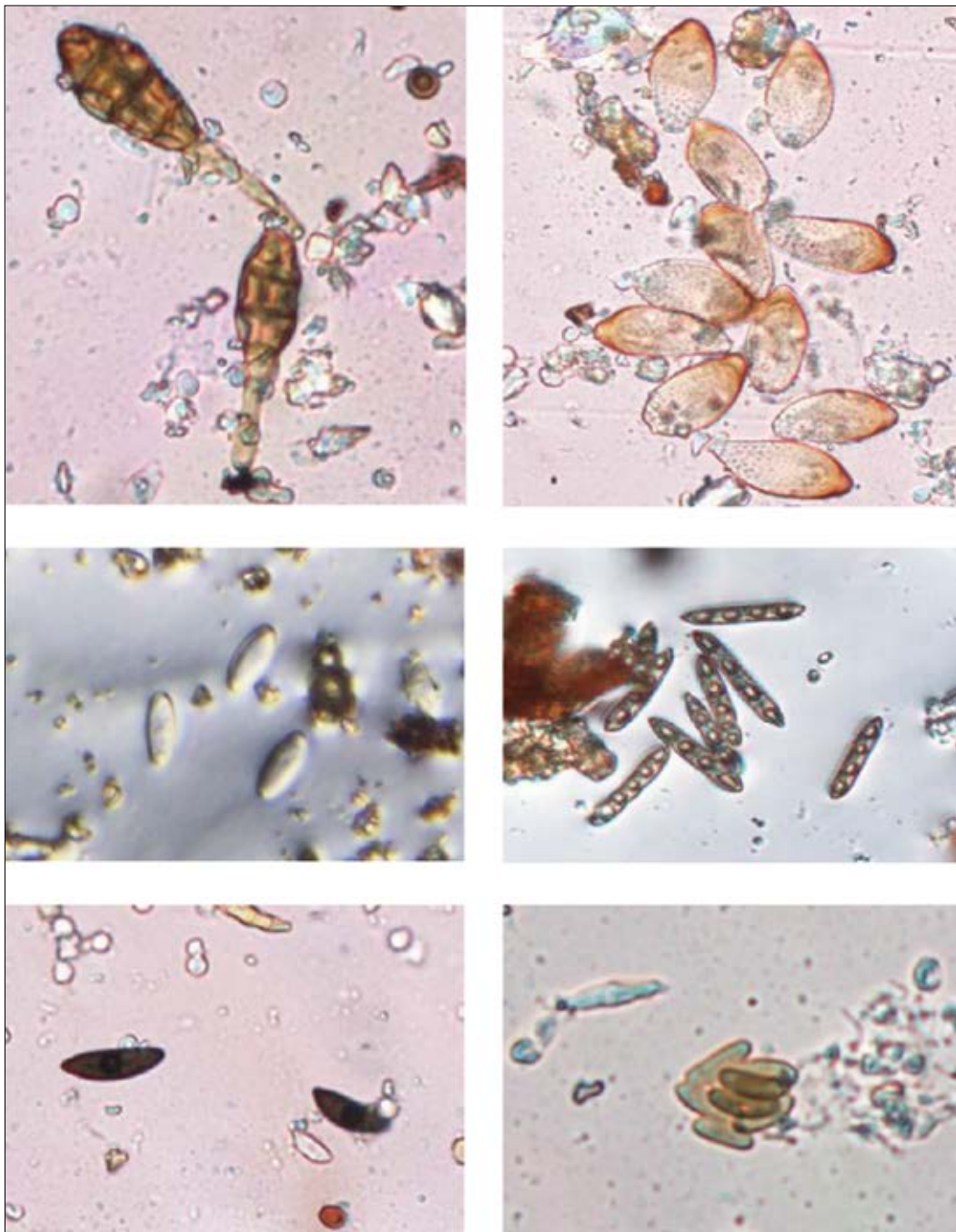
Ugotavljamo, da spremljanje askospor glive *E. parasitica* v naši raziskavi ni bilo uspešno, saj smo na vzorčevalnem traku odkrili askospore glive *E. parasitica* le v enem primeru, in sicer pri vzorčenju na lokaciji Moravče, ki smo ga izvajali od 4. do 6. septembra 2019. Celo v tem primeru je bila odkrita le ena skupina askospor (slika 3).



Slika 2: Volumetrični vzorčevalnik, opremljen z dvema solarnima paneloma, postavljen neposredno ob gorskem javoru, okuženim z glivo *Eutypella parasitica*, na lokaciji Moravče

Kaj je razlog, da z vzorčevalnikom nismo uspeli ujeti askospor glive *E. parasitica*? Najprej bi lahko pomislili na nepravilno delovanje vzorčevalnika,

vendar lahko tak pomislek zavržemo zaradi številnih ujetih raznoraznih trosov gliv (slika 3) in drugih mikrodelcev. V Severni Ameriki sta volu-



Slika 3: Nekaj primerov spor, ki smo jih odkrili z vzorčevalnikom. Desno spodaj je slika edine skupine askospor glive *E. parasitica*, ki smo jo odkrili med našim spremljanjem

metrični vzorčevalnik tipa Hirst za spremljanje sproščanja askospor glive *E. parasitica* uspešno uporabila že Johnson in Kunz (1979) in tudi v novejših časih je ta tip pasti še vedno v rabi za spremljanje trosov najrazličnejših gliv (O'Connor in sod., 2014). Presenečeni zaradi neuspeha smo naknadno preverjali, ali je rakave rane, ob katerih smo postavili vzorčevalnike, resnično povzročila gliva *E. parasitica*. Podobne poškodbe debla s črnimi trosišči namreč oblikuje tudi gliva *Botryosphaeria dothidea* (Moug. ex Fr.) Ces. & De Not. (Ogris, 2012; Brglez in sod., 2018). Micelijske pahljačice (slika 4), ki smo jih odkrili pod skorjo na robu rakave rane posameznega drevesa, so potrdile, da gre v naših primerih resnično za javorov rak. Mikroskopska analiza odvzetih delov skorje s periteciji je razkrila prisotnost tipičnih askov in askospor (slika 4) ter tako potrdila, da so rakave rane še aktivne oziroma, da gliva *E. parasitica* v okuženem drevesu še ni odmrta.

Če so temperaturne in vlažnostne razmere primerne, sproščanje askospor poteka vse leto. Potrebne so temperature nad 4 °C, skozi krošnje dreves pa mora pronicati vsaj 3 mm padavin. Visoka zračna vlaga za začetek sproščanja spor ni zadostna, periteciji morajo biti navlaženi, vseeno pa visoka zračna vlaga pozitivno vpliva na dolžino obdobja sproščanja spor (Lachance, 1971; Johnson in Kunz, 1979; Ogris in sod., 2007). Na podlagi modela, ki so ga razvili Ogris in sod. (2007), predvidevamo, da so v Sloveniji za širjenje glive *E. parasitica* najugodnejše podnebne razmere od aprila do vključno novembra. Tri lokacije, kjer smo izvajali spremljanje, po modelu istih avtorjev spadajo v območje visoke primernosti podnebja. Lokacije in čas spremljanj iz tega vidika v našem primeru niso bili vprašljivi. Ker smo vzorčevalnike postavljali po dežju, predvidevamo, da so bile tudi vlažnostne razmere ustrezne.



Slika 4: Micelijske pahljačice glive *E. parasitica*, ki smo jih odkrili pod skorjo, na robu rakave rane (levo) in tipični aski z askosporami glive *E. parasitica* (desno).



Slika 5: Periteciji glive *E. parasitica* na vratovi, ki izraščajo na površini okužene skorje (levo); spremljanje sproščanja askospor z objektivnim steklom in dvostranskim lepilnim trakom (desno)

Periteciji sproščajo askospore v skupinah po osem. Tak način sproščanja naj bi bil zaradi nekoliko večje teže skupine spor (v primerjavi s sporami, ki se sproščajo posamezno) manj primeren za učinkovito širjenje z vetrom. Tako so spore glive *E. parasitica* redko ulovljene več kot 30 m stran od izvornega javorovega raka (Johnson in Kunz, 1979). Na vseh treh lokacijah so bili vzorčevalniki postavljeni nekaj metrov od okuženega drevesa, je pa res, da je bilo na vseh lokacijah v bližini vzorčevalnikov le eno okuženo drevo. To bi bila lahko glavna težava našega spremljanja, saj bi moral veter za uspešno lovljenje spor pihati vsaj približno v smeri od rakave rane do vzorčevalnika. Pri sami postavitvi vzorčevalnika smo sicer upoštevali trenutno smer vetra, vendar se je njegova smer v obdobju spremljanja oziroma morebitnega sproščanja askospor lahko spreminjala. Da bi se izognili takim težavam, bi lahko v okolici okuženega drevesa postavili več vzorčevalnikov, kar pa zaradi velikosti in cene potrebne opreme ni najboljša rešitev. Koncen-

tracijo askospor glive *E. parasitica* bi bilo tako najbolj smiselno spremljati na lokacijah, kjer je na majhni površini (npr. v krogu z radijem 30 m) več (npr. 5–6) javorovih rakov, vzorčevalnik pa bi postavili v sredino, med okužena drevesa. Kakorkoli, zaradi relativne razpršenosti javorovih rakov v Sloveniji ni prav veliko takih lokacij.

Pri zadnjih ponovitvah spremljanj v letu 2020 smo sproščanje askospor poskušali ugotoviti tudi na način, da smo objektno steklo, na katerem je bil dvostranski lepilni trak, pritrjili nekaj milimetrov od vratov peritecijev, ki so izražali iz okužene skorje (slika 5). Tudi s to metodo nismo uspeli potrditi sproščanja askospor glive *E. parasitica*, saj na objektnem stekelcu po 48-urnem spremljanju nismo zaznali askospor.

Spomladi leta 2019 smo na Rožniku v Ljubljani (GKY: 459933; GKX: 100869) preizkusili še en tip vzorčevalnika, in sicer lovilnik trosov ROTTRAP (izdelovalec: Miloš Dvořák, Češka). To je past z dvema rotirajočima žičnatima ročkama, dolžine 50 mm, ki sta med seboj oddaljeni 200 mm. Na



Slika 6: Spremljanje sproščanja askospor glive *E. parasitica* z vzorčevalnikom ROTTRAP (levo). Desno zgoraj so prikazane rotirajoče žičnate ročke tega vzorčevalnika (vir: Dvořák in sod., 2017). Mikroskopska slika desno spodaj prikazuje veliko gostoto deponiranih mikrodolcev na vzorčevalnem lepilnem traku, ki je bil 48 ur pritrjen na delujoči ROTTRAP.

spretno stran obeh žičk (glede na smer vrtenja) smo pritrdili dvostranski lepilni trak, na katerega se deponirajo mikrodelci iz zraka. Lovilnik trosov je pritrdjen na lesen kol (slika 6) tako, da je postavitev ne glede na teren v gozdu zelo preprosta, motorček, ki poganja žičnate ročke, pa napaja akumulator. Če bi hoteli na eni lokaciji postaviti več vzorčevalnikov, je ta tip vsekakor primernejši, vendar pa je v tem primeru precej otežena mikroskopska analiza lepilnih trakov, na katere se deponirajo mikrodelci iz zraka. Tak vzorčevalnik namreč vzorči kar 120 l zraka na minuto (Dvořák in sod., 2017), ves čas vzorčenja pa je izpostavljen ves vzorčevalni lepilni trak. Gostota deponiranih mikrodelcev je zato ob večdnevem spremljanju tolikšna, da je razlikovanje različnih glivnih spor skoraj nemogoče (slika 6). Da bi bilo delo v mikroskopirnici lažje, bi bilo treba vsak dan menjavati vzorčevalne lepilne trakove. Tudi v tem primeru nismo ulovili askospor glive *E. parasitica*.

Na eni rakavi rani se v povprečju razvije več kot 600.000 peritecijev, ki lahko v ugodnih razmerah v eni uri sprostijo približno eno milijardo askospor (Ogris in sod. 2009; Brglez in sod., 2018). Ob takih količinah sproščenih askospor je težko razumeti, da je bil v našem primeru ulov praktično nič. Domnevamo, da so glavni razlog za to pomanjkljivosti naših metod spremljanja, ki jih bo treba v prihodnje odpraviti.

4 ZAHVALA

Prispevek je nastal v okviru projekta LIFE ARTEMIS (LIFE15 GIE/SI/000770), ki ga sofinancirajo Evropska komisija v okviru finančnega mehanizma LIFE, Ministrstvo za okolje in prostor, Mestna občina Ljubljana in Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije. Avtor prispevka se za pomoč pri iskanju primernih lokacij za izvajanje spremljanja zahvaljuje Nini Iveta (ZGS KE Ljubljana) in Boštjanu Šnebergerju (ZGS KE Domžale), zahvala pa velja tudi anonimnemu recenzentu za pregled prispevka in predloge izboljšav.

5 VIRI

- Brglez A., Jurc D., de Groot M., Kolšek M., Ogris N., Rantaša B., Zidar S. 2018. Skupaj ustavimo javorov rak! 1. izd. Ljubljana, Založba Silva Slovenica, Gozdarski inštitut Slovenije: 14 str.
- Brglez A., Piškur B., Humar M., Gričar J., Ogris N. 2020. The effect of *Eutypella parasitica* on the wood decay of three maple species. *Forests*, 11, 671.
- EPPO Global database. 2020. *Eutypella parasitica*.: distribution. <https://gd.eppo.int/taxon/ETPLPA/distribution> (22. 12. 2020)
- Dvořák M., Janoš P., Botella L., Rotková G., Zas R. 2017. Spore dispersal patterns of *Fusarium circinatum* on an infested Monterey pine forest in North-Western Spain. *Forests*, 8, 432.
- Johnson D.W., Kuntz J.E. 1979. *Eutypella* canker of maple: Ascospore discharge and dissemination. *Phytopathology*, 69: 130–135
- Jurc D., Ogris N., Slippers B. Stenlid J. 2006. First report of *Eutypella* canker of *Acer pseudoplatanus* in Europe, *Plant Pathology*, 55, 4: 577
- Jurc D. 2008. Ali nas mora zanimati javorov rak?. *Gozdarski vestnik*, 66, 5: 75–76.
- Lachance D. 1971. Discharge and germination of *Eutypella parasitica* ascospores. *Canadian Journal of Botany*, 49: 1111–1118.
- O'Connor J., Sadys M., Skjøth C. A., Healy D. A., Kennedy R., Sodeau J. R. 2014. Atmospheric concentrations of *Alternaria*, *Cladosporium*, *Ganoderma* and *Didymella* spores monitored in Cork (Ireland) and Worcester (England) during the summer of 2010. *Aerobiologia*, 30: 397–411.
- Ogris N., Jurc D., Jurc M. 2005. Javorov rak (*Eutypella parasitica*: Ascomycota: Fungi) na gorskem javoru in maklenu: značilnosti in razlike. *Gozdarski vestnik*, 63,10: 411–419
- Ogris N., Jurc D., Jurc M. 2007. Ocena tveganja za širjenje javorovega raka (*Eutypella parasitica*) v Sloveniji zaradi podnebnih sprememb. V: Podnebne spremembe vpliv na gozd in gozdarstvo. Jurc M. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire: 335–358
- Ogris N., Piškur B., Jurc D. 2009. Some morphological aspects of *Eutypella* canker of maple (*Eutypella parasitica*). V: Proceedings of the IUFRO Working Party 7.02.02, Turkey, 11–16 Maj 2009: 150–161.
- Ogris N. 2012. Javorov rak - *Eutypella parasitica*. V: Navodila za preprečevanje in zatiranje škodljivcev in boleznih gozdnega drevja v Sloveniji. Jurc D., Kolšek M. (ur.). Studia Forestalia Slovenica = Strokovna in znanstvena dela, 139. Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije, Silva Slovenica: 93–96.
- Ogris N. 2020. Spletna aplikacija Invazivke: različica 3.3. Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije. <https://www.invazivke.si>