

ZAKLJUČNO POROČILO
O REZULTATIH OPRAVLJENEGA RAZISKOVALNEGA DELA
NA PROJEKTU V OKVIRU CILJNEGA RAZISKOVALNEGA
PROGRAMA (CRP) »KONKURENČNOST SLOVENIJE 2006 – 2013«

I. Predstavitev osnovnih podatkov raziskovalnega projekta

1. Naziv težišča v okviru CRP:

5 Povezovanje ukrepov za doseganje trajnostnega razvoja

2. Šifra projekta:

V4-0328

3. Naslov projekta:

Preučevanje odpornosti škodljivih organizmov na nekatera fitofarmacevtska sredstva

REPUBLIKA SLOVENIJA
NOSILEC JAVNEGA POBLASTILA
JAVNA AGENCIJA ZA RAZISKOVALNO DEJAVNOST
REPUBLIKE SLOVENIJE, LJUBLJANA

Prejeto: 20-03-2009

Šifra zadeve: 63113-248/2006

Sig. z.:
Pril.:
Vrednost:

3. Naslov projekta

3.1. Naslov projekta v slovenskem jeziku:

Preučevanje odpornosti škodljivih organizmov na nekatera fitofarmacevtska sredstva

3.2. Naslov projekta v angleškem jeziku:

Study of plant pest and pathogens resistance to some pesticides

4. Ključne besede projekta

4.1. Ključne besede projekta v slovenskem jeziku:

odpornost, škodljivci organizmi, fitofarmacevtska sredstva

4.2. Ključne besede projekta v angleškem jeziku:

resistance, plant pests, plant pathogens, pesticides

5. Naziv nosilne raziskovalne organizacije:

0401 Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, 1001 Ljubljana

5.1. Seznam sodelujočih raziskovalnih organizacij (RO):

416 Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec

6. Sofinancer/sofinancerji:

Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano

7. Šifra ter ime in priimek vodje projekta:

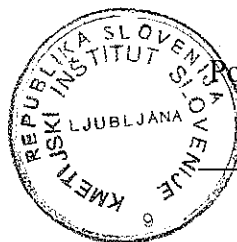
5672

Gregor Urek

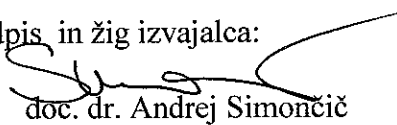
Datum: 5. marec 2009

Podpis vodje projekta:


doc. dr. Gregor Urek



Podpis in žig izvajalca:


doc. dr. Andrej Simončič

II. Vsebinska struktura zaključnega poročila o rezultatih raziskovalnega projekta v okviru CRP

1. Cilji projekta:

1.1. Ali so bili cilji projekta doseženi?

a) v celoti

b) delno

c) ne

Če b) in c), je potrebna utemeljitev.

-

1.2. Ali so se cilji projekta med raziskavo spremenili?

a) da

b) ne

Če so se, je potrebna utemeljitev:

-

2. Vsebinsko poročilo o realizaciji predloženega programa dela¹:

glej prilogo 1

¹ Potrebno je napisati vsebinsko raziskovalno poročilo, kjer mora biti na kratko predstavljen program dela z raziskovalno hipotezo in metodološko-teoretičen opis raziskovanja pri njenem preverjanju ali zavračanju vključno s pridobljenimi rezultati projekta.

3. Izkoriščanje dobljenih rezultatov:

3.1. Kakšen je potencialni pomen² rezultatov vašega raziskovalnega projekta za:

- a) odkritje novih znanstvenih spoznanj;
- b) izpopolnitev oziroma razširitev metodološkega instrumentarija;
- c) razvoj svojega temeljnega raziskovanja;
- d) razvoj drugih temeljnih znanosti;
- e) razvoj novih tehnologij in drugih razvojnih raziskav.

3.2. Označite s katerimi družbeno-ekonomskimi cilji (po metodologiji OECD-ja) sovpadajo rezultati vašega raziskovalnega projekta:

- a) razvoj kmetijstva, gozdarstva in ribolova - Vključuje RR, ki je v osnovi namenjen razvoju in podpri teh dejavnosti;
- b) pospeševanje industrijskega razvoja - vključuje RR, ki v osnovi podpira razvoj industrije, vključno s proizvodnjo, gradbeništvom, prodajo na debelo in drobno, restavracijami in hoteli, bančništvom, zavarovalnicami in drugimi gospodarskimi dejavnostmi;
- c) proizvodnja in racionalna izraba energije - vključuje RR-dejavnosti, ki so v funkciji dobave, proizvodnje, hranjenja in distribucije vseh oblik energije. V to skupino je treba vključiti tudi RR vodnih virov in nuklearne energije;
- d) razvoj infrastrukture - Ta skupina vključuje dve podskupini:
 - transport in telekomunikacije - Vključen je RR, ki je usmerjen v izboljšavo in povečanje varnosti prometnih sistemov, vključno z varnostjo v prometu;
 - prostorsko planiranje mest in podeželja - Vključen je RR, ki se nanaša na skupno načrtovanje mest in podeželja, boljše pogoje bivanja in izboljšave v okolju;
- e) nadzor in skrb za okolje - Vključuje RR, ki je usmerjen v ohranjanje fizičnega okolja. Zajema onesnaževanje zraka, voda, zemlje in spodnjih slojev, onesnaženje zaradi hrupa, odlaganja trdnih odpadkov in sevanja. Razdeljen je v dve skupini:
- f) zdravstveno varstvo (z izjemo onesnaževanja) - Vključuje RR - programe, ki so usmerjeni v varstvo in izboljšanje človekovega zdravja;
- g) družbeni razvoj in storitve - Vključuje RR, ki se nanaša na družbene in kulturne probleme;
- h) splošni napredek znanja - Ta skupina zajema RR, ki prispeva k splošnemu napredku znanja in ga ne moremo pripisati določenim ciljem;
- i) obramba - Vključuje RR, ki se v osnovi izvaja v vojaške namene, ne glede na njegovo vsebino, ali na možnost posredne civilne uporabe. Vključuje tudi varstvo (obrambo) pred naravnimi nesrečami.

² Označite lahko več odgovorov.

3.3. Kateri so **neposredni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Ugotovili smo odpornost nekaterih škodljivih vrst na uporabljena fitofarmacevtska sredstva (npr. odpornost nekaterih populacij koloradskega hrošča na organofosforni insekticid klorpirifos in sintetični piretroid lambda-cihalotrin, odpornost gliv *Monilinia fructigena* in *M. laxa* na ciprodonil itn.), pri nekaterih vrstah aktivnih snovi je prišlo do popuščanja učinkovitosti (npr. pri uporabi pimetrozina proti hmeljevi listni uši), pri nekaterih fitofarmacevtskih pripravkih pa odpornosti na testirane škodljive organizme nismo ugotovili. Na temelju navedenih ugotovitev bomo v prihodnje lahko natančneje spremljali oziroma opredeljevali stanje na področju odpornosti različnih škodljivih organizmov na uporabljena fitofarmacevtska sredstva. Rezultati raziskave bodo pomembno prispevali k strokovnemu pristopu reševanja zdravstvenega stanja najpomembnejših gojenih rastlin v Sloveniji. Na podlagi spoznanj se bo mogoče hitreje in ustrežneje odzivati na nastajajoče probleme zdravstvenega varstva rastlin, oblikovati primernejšo strategijo varstva in vplivati na nesmotrno rabo fitofarmacevtskih sredstev, predvsem tistih, za katera smo ugotovili, da so zaradi razvite odpornosti ciljnih organizmov neučinkovita. Vse to bo lahko vodilo k zmanjševanju obremenjevanja okolja in zniževanju stroškov pridelave gojenih rastlin.

3.4. Kakšni so lahko **dolgoročni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Rezultati raziskave predstavljajo osnovo za strokoven pristop k reševanju varstva najpomembnejših gojenih rastlin. Na temelju naših spoznanj lahko natančneje opredelimo priporočila v okviru integrirane pridelave gojenih rastlin in integriranega varstva rastlin. Omenjena spoznanja bodo prispevala k dvigu konkurenčnosti pridelave gojenih rastlin pri nas ter k preprečevanju prekomernega obremenjevanja okolja.

3.5. Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja deležna zaznavnega odziva?

- a) v domačih znanstvenih krogih;
- b) v mednarodnih znanstvenih krogih;
- c) pri domačih uporabnikih;
- d) pri mednarodnih uporabnikih.

3.6. Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?

KGZS, kmetje

3.7. Število diplomantov, magistrstrov in doktorjev, ki so zaključili študij z vključenostjo v raziskovalni projekt?

-

4. Sodelovanje z tujimi partnerji:

4.1. Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujimi raziskovalnimi inštitucijami.

Exploiting genomics to understand plant - nematode interactions, COST 872; koordinator: Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee, UK, nosilec na KIS: Gerič B., sodelavec: Urek G.

Leafy vegetables germplasm, stimulating use (ACRONYM: LEAFYVEG), AGRI-GEN RES 2006-0262, nosilec: CGN, The Netherlands; nosilec na KIS: Meglič V., sodelavec: Urek G.

Molekulska raznolikost faktorjev patogenosti pri krompirjevih ogorčicah *Globodera pallida* in *G. rostochiensis*; Bilateralna FRA-SLO: INRA 2007- 08, nosilec na KIS: Gerič B., sodelavec: Urek G.

Biogeography and diversity of *Bursaphelenchus* species associated with pine forests: implications for pine wilt disease caused by the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* - Bilateralni projekt SI-PT-2008-09; sodelujoča organizacija: Dept. Biologia, Universidade de Évora, nosilec na KIS: Urek G.

Development of sustainable agriculture in south-eastern europe: risk assessment of virus vector nematodes (fam. Longidoridae) in agricultural and horticultural crops in Slovenia and Bulgaria - Bilateralni projekt SI-BG-2009-10; sodelujoča organizacija: Central Laboratory of General Ecology, BAS, nosilec na KIS: Urek G.

4.2. Kakšni so rezultati tovrstnega sodelovanja?

Rezultati tovrstnega sodelovanja se kažejo v hitrejšem prenosu znanja na področju zdravstvenega varstva rastlin, predvsem spoznavanja, detektiranja in identificiranja škodljivih organizmov ter vzpostavljanja ustreznih tehnologij varstva rastlin.

5. Bibliografski rezultati³ :

Za vodjo projekta in ostale raziskovalce v projektni skupini priložite bibliografske izpise za obdobje zadnjih treh let iz COBISS-a) oz. za medicinske vede iz Inštituta za biomedicinsko informatiko. Na bibliografskih izpisih označite tista dela, ki so nastala v okviru pričujočega projekta.

³ Bibliografijo raziskovalcev si lahko natisnete sami iz spletne strani:<http://www.izum.si/>

6. Druge reference⁴ vodje projekta in ostalih raziskovalcev, ki izhajajo iz raziskovalnega projekta:

--

⁴ Navedite tudi druge raziskovalne rezultate iz obdobja financiranja vašega projekta, ki niso zajeti v bibliografske izpise, zlasti pa tiste, ki se nanašajo na prenos znanja in tehnologije. Navedite tudi podatke o vseh javnih in drugih predstavitev projekta in njegovih rezultatov vključno s predstavitvami, ki so bile organizirane izključno za naročnika/naročnike projekta.

Kmetijski inštitut Slovenije

Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Žalec

**PREUČEVANJE ODPORNOSTI ŠKODLJIVIH ORGANIZMOV NA
NEKATERA FITOFARMACEVTSKA SREDSTVA**

CRP: V4-0328

Zaključno poročilo

PRILOGA 1

Ljubljana, marec 2009

Soizvajalec:

Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije
Cesta Žalskega tabora 2
3310 Žalec

Raziskovalci:

Doc. dr. Gregor Urek, univ. dipl. inž. agr.
Dr. Alenka Munda, univ. dipl. inž. agr.
Doc. dr. Andrej Simončič
Marjeta Zemljič Urbančič
Vojko Škerlavaj
Dr. Hans Josef Schroers
Dr. Tatjana Kavar
Mag. Špela Modic
Dr. Magda Rak Cizej
Marko Zmrzlak

Podpis odgovornega nosilca projekta

Doc. dr. Gregor Urek



Podpis in žig izvajalca:

Doc. dr. Andrej Simončič

VSEBINA

	Stran
1 UVOD	2
2 MATERIAL IN METODE DE LA	2
2.1 Odpornost slovenskih populacij koloradskega hrošča na klorpirifos etil, lambdacihalotrin in imidakloprid	2
2.2 Odpornost hmeljeve listne uši na imidakloprid, pime trozin in lambdacihalotrin	4
2.3 Odpornost gliv <i>Monilinia fructigena</i> in <i>M. laxa</i> na fungicide iz skupine dikarboksimidov, anilinopirimidinov in hidroksianilidov	5
2.4 Odpornost glive <i>Uncinula necator</i> na	6
2.5 Odpornost plevelov na herbicide iz skupine triazinov in sulfonil sečnin	8
3 REZULTATI IN KOMENTAR	9
4 SKLEPI	20

1 UVOD

Pojav odpornosti škodljivih organizmov na fitofarmacevtska sredstva se ponavadi kaže kot pojemajoče delovanje nekega pripravka na ciljni organizem. Zaradi tega se pridelovalci oziroma uporabniki fitofarmacevtskih sredstev večkrat zatečejo k povečanim odmerkom in pogostejši uporabi teh sredstev, kar vodi k pretiranemu in nepotrebemu obremenjevanju okolja. S spremljanjem pojava in razvoja odpornosti lahko zaznamo poemanje delovanja nekega pripravka in uporabnike pravočasno pripravimo na ustrezen odziv.

Odpornost na fitofarmacevtska sredstva je resen problem zdravstvenega varstva rastlin, s katerim smo se v Sloveniji v preteklosti že srečali. Že leta 1967 je bila dokazana odpornost koloradskega hrošča na insekticide iz skupine kloriranih ogljikovodikov, v osemdesetih letih je bila podrobneje raziskana odpornost glive *Botrytis cinerea* na vinski trti na benomil (Urek, 1985), v devetdesetih letih pa so bili potrjeni primeri odpornosti bele metlike ter srhkodlakavega ščira na atrazin. V zadnjih desetih letih pa v Sloveniji skoraj ni bilo raziskav na tem področju, čeprav so v praksi večkrat opazili slabše delovanje nekaterih fitofarmacevtskih sredstev pri določenih organizmih. Zaradi naraščajočega zaznavanja pojemanja učinkovitosti nekaterih aktivnih snovi smo se odločili raziskati stanje in ugotoviti morebiten pojav odpornosti pri nekaterih škodljivih organizmih (insektih, glivah in plevelih) pomembnejših kmetijskih rastlin. S pravočasno detekcijo pojava odpornosti lahko omilimo nepotreben vnos kemičnih snovi v okolje, zmanjšamo izpostavljenost uporabnikov tem snovem, vzporedni učinki pa se kažejo tudi v zmanjševanju količine ostankov škropilne brozge in odpadne embalaže.

Program dela je bil zasnovan na več ločenih programskih sklopih v okviru katerih smo preučevali:

- morebitno odpornost slovenskih populacij koloradskega hrošča *Leptinotarsa decemlineata* na klorpirifos etil, lambdacihalotrin in imidaklopid,
- morebitni pojav odpornosti hmeljeve listne uši *Phorodon humuli* na imidaklopid, pimetozin in lambdacihalotrin,
- občutljivost populacij gliv *Monilinia fructigena* in *M. laxa* na fungicide iz skupine dikarbosimidov, anilinopirimidinov in hidroksianilidov,
- stanje odpornosti glive *Uncinula necator* na izbrane fungicide
- odpornost plevelov v koruzi in pšenici na herbicide iz skupine triazinov in sulfonil sečnin.

2 MATERIAL IN METODE DELA

2.1 Odpornost slovenskih populacij koloradskega hrošča na klorpirifos-etil, lambdacihalotrin in imidaklopid

V letih 2006 in 2007 smo po različnih območjih Slovenije nabirali populacije koloradskega hrošča, različnih razvojnih stadijev: ličinke v prvem oz. drugem (L1/L2) ter tretjem oz. četrtem larvalnem stadiju (L3/L4) in odrasle hrošče (H). Odpornost na izbrane insekticide smo preučevali v laboratorijskih razmerah. Uporabili smo metodo, ki je pri IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) priporočena za ugotavljanje odpornosti grizočih žuželk na insekticide (metoda IRAC št. 7).

Preizkušali smo sledeče insekticidne snovi:

- organofosforni insekticid klorpirifos-etil, v komercialnem pripravku dursban E- 48,
- sintetični piretroid lambdacihalotrin, v komercialnem pripravku karate-zeon 5CS in
- neonikotinoid imidaklopid, pripravek confidor SL 200.

Pripravili smo vodne raztopine pripravkov tako, da smo v poskusu uporabili insekticide v različnih koncentracijah: 0 %, 16,8 %; 24 %; 34,3; 49 %; 70 %; 100 %; 200 %; 400 % in 800 % poljskega odmerka. 100 % koncentracija je bila enaka priporočenemu poljskemu odmerku pripravka (l/ha) v 400 l vodne raztopine. Iz teh t.i. 100 % koncentracij smo izračunali vse ostale koncentracije preskušanih insekticidov. Priporočni odmerek za insekticid dursban E-48 je bil 2,0 l/ha, za confidor SL 200 0,5 l/ha in za karate zeon 5 CS 0,13 l/ha.

Tabela 1: Uporabljene koncentracije insekticidov

Insekticid	Koncentracija (%) glede na priporočeni poljski odmerek	Oznaka	Količina insekticida v ml za 100 ml vode	Ppm (µl/l)
DURSBAN E-48 (klorpirifos 480 g/l)	800	D 800	4	40000
	400	D 400	2	20000
	200	D 200	1	10000
	100	D 100	0,5	5000
	70	D 70	0,35	3500
	49	D 49	0,245	2450
	34,2	D 34,2	0,171	1710
	24	D 24	0,120	1200
	16,8	D 16,8	0,084	840
	0	D 0	0	0
CONFIDOR SL 200 (imidaklopid 200 g/l)	800	C 800	1	10000
	400	C 400	0,5	5000
	200	C 200	0,25	2500
	100	C 100	0,125	1250
	70	C 70	0,088	880
	49	C 49	0,061	610
	34,3	C 34,3	0,043	430
	24	C 24	0,030	300
	16,8	C 16,8	0,021	210
	0	C 0	0	0
KARATE ZEON 5 CS (lambda-cihalotrin 50 g/l)	800	K 800	0,256	2560
	400	K 400	0,128	1280
	200	K 200	0,064	640
	100	K 100	0,032	320
	70	K 70	0,022	220
	49	K 49	0,016	160
	34,2	K 34,3	0,011	110
	24	K 24	0,008	80
	16,8	K 16,8	0,005	50
	0	K 0	0	0

Pred vsakim poskusom smo pripravili po 100 ali 200 ml navedenih insekticidnih raztopin, vanje smo pomakali sveže nabrane krompirjeve liste, jih osušili na zraku in zložili v petrijeve

posode, premera 14 cm. V skladu z omenjeno metodo smo na tako pripravljene liste v vsako posodo dodali po 10 osebkov koloradskega hrošča, ločeno ličinke L1/L2, L3/L4 in odrasle hrošče. Petrijeve posode smo postavili v gojitveno komoro (tip RK – 720 VPCH, proizvajalec: Kambič, Semič), kjer je bila 80 % zračna vlaga in režim 16 ur dan in 8 ur noč. Poskus je potekal v štirih ponovitvah, tako je bilo vsaki koncentraciji posamezne aktivne snovi izpostavljenih skupaj 40 osebkov enakega razvojnega stadija. Pri kontrolnih postopkih (koncentracija 0 %) smo krompirjeve lističe pomakali samo v vodo, brez insekticida. Po 48 in po 72 urah smo za vsako posodo ocenili smrtnost hroščev.

Iz dobljenih podatkov smo najprej izračunali korigirano smrtnost žuželk po Abbottovi formuli. Rezultate smo nato statistično obdelali s Probit analizo. Za različne populacije in razvojne stadije koloradskega hrošča smo dobili funkcijsko krivuljo, ki določa razmerje med koncentracijo in učinkovitostjo insekticida. Iz nje smo odčitali dve pomembni vrednosti, LD₅₀ in LD₉₅. Vrednosti nam povesta, pri kateri koncentraciji insekticida smo dosegli 50 % oz. 95 % smrtnost žuželk v poskusu. Čim manjši sta vrednosti, tem boljše je delovanje sredstva. Za ugotavljanje morebitne odpornosti je potrebno primerjati obe vrednosti s priporočenimi poljskimi odmerki insekticidov. Kadar je LD₉₅ enak priporočenemu poljskemu odmerku, lahko, gledano teoretično, izhaja, da majhen del preiskovane populacije hrošča preživi, da torej rezistenca obstaja.

Tabela 2: Preskušani insekticidi in razvojni stadiji koloradskega hrošča po lokacijah vzorčenja

Lokacija vzorčenja	Klorpirifos (dursban E-48)			Lambda-cihalotrin (karate zeon 5 CS)			Imidakloprid (confidor SL 200)		
Komenda	L1,2		H	L1,2		H	L1,2		H
Domžale	L1,2		H	L1,2		H			H
Dorfarje			H			H			
Kranj	L1,2	L3,4		L1,2	L3,4		L1,2	L3,4	
Lipovci/Beltinci		L3,4			L3,4			L3,4	
Krasinec	L1,2			L1,2				L3,4	
Cerklje/Krško	L1,2		H	L1,2		H		L3,4	H
Vrhovo	L1,2			L1,2		H		L3,4	
Lipovec/Žužemberk		L3,4			L3,4	H		L3,4	
Ljubljana/BF			H			H			H

2.2 Odpornost hmeljeve listne uši na imidakloprid, pimeprozin in lambdacihalotrin

V letih 2007 in 2008 smo konec maja in v juniju izvajali laboratorijsko testiranje odpornosti hmeljeve listne uši *Phorodon humuli* na sistemična insekticida confidor 200 SL (a.s. imidakloprid) in chess 50 WG (pimeprozin) ter na insekticid s kontaktnim delovanjem - karate Zeon 5 CS (lambda-cihalotrin) po metodi Hardy in Kuldova (1981). Hmeljeve listne uši smo nabrali v hmeljiščih Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) v Žalcu, na dveh lokacijah v Savinjski dolini (Mozirje, Gomilsko) ter na Koroškem (Šmartno pri Slovenj Gradcu). Mlade hmeljeve listne uši iz različnih krajev, katere smo nanесли na spodnjo stran listov hmelja, smo izpostavili osmim različnim koncentracijam aktivne snovi imidakloprid (0,001 %; 0,00175 %; 0,00359 %; 0,0175 %; 0,12225 %; 0,01 %; 0,02 % - priporočena koncentracija); kot kontrolo smo uporabili vodo. Aktivno snov pimeprozin smo nanесли oziroma preizkusili v šestih različnih koncentracijah (0,0005 %; 0,001 %; 0,003 %; 0,005 %; 0,02 % - priporočena koncentracija; 0,03 %), lambda-cihalotrin pa v treh različnih

koncentracijah (0,01 % - priporočena koncentracija; 0,02 % in 0,03 %); kot kontrolo smo vedno uporabili vodo. Lambda-cihalotrin smo uporabili le za primerjavo, saj je znano, da je nanj hmeljeva listna uš v preteklosti že razvila odpornost in ga hmeljarji zato dlje časa niso uporabljali, danes pa ga ponovno rabijo za začetno zatiranje nizkih populacij uši. Vsa obravnavanja pri preverjanju učinkovitosti omenjenih aktivnih snovi smo opravili v 6 ponovitvah.

Po en (1) ml insekticidne raztopine smo nanесли na posamezen list s pomočjo naprave Potter Tower in nanj naselili po 20 mladih uši. Umrljivost uši smo ugotavljali po 5 do 7 dneh. Poskus smo opravili v rastni komori (Kambič), kjer je bila temperatura 23°C, zračna vlažnost pa 70 % pri 16 urni osvetlitvi. Ugotavljali smo odstotek smrtnosti listnih uši in na temelju tega izračunali biološko učinkovitost preizkušanih insekticidov (po formuli Schneider-Orelli) z ozirom na različne koncentracije. Opravili smo primerjavo rezultatov z ozirom na različne lokacije, s katerih so izvirale listne uši, oziroma z ozirom na preizkušane insekticide.

2.3 Odpornost gliv *Monilinia fructigena* in *M. laxa* na fungicide iz skupine dikarboksimidov, anilinopirimidinov in hidroksianilidov

Ugotavljali smo pojav odpornosti pri izolatih vrst *M. laxa* in *M. fructigena* na fungicide iz skupine dikarboksimidov, anilinopirimidinov in hidroksianilidov. Za preskus smo izbrali pripravke: kidan z aktivno snovjo iprodion (25 %) iz skupine dikarboksimidov s srednjim do visokim tveganjem za pojav odpornosti, pripravek chorus 75 WG z aktivno snovjo ciprodinil (75 %), ki sodi v skupino anilinopirimidinov in je pri njem tveganje za pojav rezistence srednje ter pripravek teldor WP 50 z aktivno snovjo fenheksamid (50 %), ki je hidroksianilid z nizkim do srednjim tveganjem za pojav odpornosti.

V poskusu smo uporabili izolate vrst *M. laxa* in *M. fructigena*, ki povzročata pojav cvetne monilije in sadne gnilobe pri številnih vrstah sadnega drevja. Vrsti sta pri nas endemični in v vlažnih letih, ko so pogoji za razvoj bolezni ugodni, lahko povzročita znaten izpad pridelka. Večino izolatov, ki smo jih uporabili v poskusu, smo izolirali v letih 2007 in 2008, uporabili pa smo tudi nekaj starejših izolatov, ki smo jih pridobili v letih 2003 – 2005 in jih hranimo v mikološki zbirki na Kmetijskem inštitutu. Skupno število testiranih izolatov je 31, od tega 21 izolatov vrste *M. laxa* in 10 izolatov vrste *M. fructigena*. Seznam uporabljenih izolatov s podatki o njihovem izvoru, gostiteljih in starosti je v tabeli 3.

Uporabili smo dve koncentraciji fungicidov, priporočen odmerek in polovični odmerek. Poskus smo opravili v štirih ponovitvah. V petrijevke smo nalili 20 ml krompirjevega agarja (Biolife), ki smo mu tik pred strjevanjem dodali ustrezno količino fungicida. V sredino petrijevke smo položili krožce agarja, preraščenega z micelijem izbranih izolatov vrst *M. laxa* in *M. fructigena*. Krožci, ki smo jih uporabili za inokulum, so bili premera 10 mm in izrezani iz deset dni starih kultur. Inokulirane petrijevke smo inkubirali v rastni komori, pri temperaturi 22 °C in 12 urni osvetlitvi. Izmerili smo premer kolonije po petih, osmih in dvanajstih dneh inkubacije. Pri izolatih, ki so priraščali zelo neenakomerno, smo opravili najmanj tri meritve premera kolonije in pri nadaljnjih izračunih upoštevali povprečno vrednost. Inhibicijo micelija gliv *M. laxa* in *M. fructigena* na gojišču z dodanimi izbranimi fungicidi smo izrazili kot odstotek zmanjšanja radialnega prirasta micelija pri različnih koncentracijah aktivne snovi glede na prirast pri kontroli.

Tabela 3: Izolati vrst *Monilinia laxa* in *M. fructigena*, ki smo jih uporabili v preizkusih odpornosti na fungicide, njihovi gostitelji, izvor in leto izolacije.

Izolat	Najdišče	Gostitelj	Leto izolacije
<i>M. laxa</i>			
07-458	Bilje, matičnjak	breskev	2007
07-259-14	Ajdovščina, sadovnjak	breskev	2007
07-257-2	Krško, sadovnjak	nektarina	2007
07-259-10	Ajdovščina, sadovnjak	breskev	2007
07-457	Ormož, matičnjak	češnja	2007
07-259-12	Ajdovščina, sadovnjak	breskev	2007
07-259	Ajdovščina, sadovnjak	breskev	2007
M 185	Pijava gorica, vrt	marelica	2000
M 15/04	Škofja loka, vrt	jablana	2004
M 250	Kampel, sadovnjak	breskev	2003
M 294/04	Pince, vrt	češnja	2004
M 255	Dekani, sadovnjak	breskev	2003
M 321	Dobravlje, sadovnjak	breskev	2003
08-8526	Prvačina, sadovnjak	breskev	2008
08-5141	Zalošče, sadovnjak	breskev	2008
08-5146	Batuje, sadovnjak	breskev	2008
08-5158	Potoče, sadovnjak	breskev	2008
08-5159	Steske, sadovnjak	breskev	2008
08-5366	Brje, sadovnjak	breskev	2008
08-5148	Prvačina, sadovnjak	breskev	2008
08-5365	Brje, sadovnjak	breskev	2008
<i>M. fructigena</i>			
07-389	Kamnik, tržnica	sliva	2007
07-259-8	Ajdovščina, sadovnjak	breskev	2007
07-258A	Izola, sadovnjak	breskev	2007
M 287/04	Vodranci, vrt	sliva	2004
M 164	Spodnja Branica, sadovnjak	breskev	2004
M 330	Dobravlje, matičnjak	breskev	2003
M 317/04	Šalovci, vrt	sliva	2004
M 260	Zdole, sadovnjak	breskev	2003
08-5367	Prvačina, sadovnjak	breskev	2008
M 433	Zgornje Palovče, vrt	hruška	2006

2.4. Odpornost glive *Uncinula necator* na fungicide iz skupine triazolov in strobilurinov

Odpornost glive *Uncinula necator* smo ugotavljali na fungicide iz skupine triazolov in strobilurinov. Uporabili smo triazolni pripravek systhane 12-E (miklobutanil) in topas 100 EC (penkonazol), iz skupine strobilurinov pa quadris (azoksistrobin).

Vzorci, na spodnji strani z glivo okužene liste vinske trte, smo nabirali v poletnih mesecih (junij, julij, avgust) v Posavju in na Primorskem. Jemali smo jih iz okuženih vinogradov z različnih sort vinske trte. Posamezen vzorec je bil sestavljen iz 30 okuženih listov, ki so bili pobrani s 30 naključno napadenih trsov. Vzorce smo pred izvedbo poskusa 2-4 dni inkubirali v rastni komori (RK-900CH) pri 22° C, 16 urni osvetlitvi in 70 % relativni zračni vlagi.

Za ugotavljanje odpornosti obravnavane glive na izbrane fungicide smo v rastlinjaku pri temperaturi nad 35°C vzgajali za oidij občutljive liste na trsnih cepljenkah, sorte Beli burgundec (Chardonnay). Mlade lističe testnih rastlin smo pred testiranjem najprej razkužili z 2 % kalcijevim hipokloridom, izprali s sterilno destilirano vodo in posušili s filter papirjem. Za preprečitev okužb z drugimi vrstami gliv smo liste ponovno namočili v raztopino metirama (Polyram DF), posušili in s sterilnim luknjačem premera 12 mm izrezovali krožce. Štirikrat po pet listnih krožcev za vsak odmerek posameznega fungicida smo namakali in pretresali 30 minut v testni fungicidni raztopini. Obdelane testne krožce smo posušili in postavili na navlažen filter papir v petrijevkah premera 100 mm. Kontrolne krožce smo namakali samo v destilirani vodi. Tretirane testne krožce smo izpostavili fungicidni raztopini pripravka sythane 12 E in sicer koncentracijam, ki so vsebovale 31.25, 3.1, 0.31, 0.031 in 0 µg/ml miklobutanila. Enake koncentracije smo uporabili tudi pri preizkušanju sredstva topas 100 EC (penkonazol). Za testiranje odpornosti glive na azoksistrobin smo uporabili pripravek quadris (250, 25, 2.5, 0.25 in 0 µg/ml aktivne snovi). S sredstvi obdelane listne krožce smo za 24 ur postavili v rastno komoro (22 °C, 16 urna osvetlitev, 70 % RH). Naslednji dan smo lističe inokulirali s sporami oidija. Na vsakem listnem krožcu je bilo od 6 - 42 konidijev. Kaljivost in razrast spor smo spremljali s pomočjo stereomikroskopa (NIKON SM Z 800).

Tabela 4: Vzorci populacije glive *Uncinula necator* za testiranje odpornosti na miklobutanil, penkonazol in azoksistrobin

Oznaka vzorca	Lokacija vzorčenja	Sorta	Leto testiranja
RF 1/07	Ravnje, vinograd	refošk	2007
RF 2/07	Ravnje-Osredek-vinograd	refošk	2007
SB 3/07	Ravnje-Planine-vinograd	Sivi burgundec	2007
BB 4/07	Ravnje-Planine-vinograd	Beli burgundec	2007
RB 5/07	Ravnje-Planine-vinograd	rebula	2007
M 6/07	Ravnje-Planine-vinograd	merlot	2007
G 7/07	Ravnje-pergola	gnjat	2007
M8/07	Ravnje - vinograd	merlot	2007
BB 9/07	Ravnje-vinograd	Beli burgundec	2007
RF 10/07	Ankaran - vinograd	refošk	2007
RF 11/07	Bertoki - vinograd	refošk	2007
M 12/07	Bertoki - vinograd	merlot	2007
MF 13/07	Trška gora-vinograd	modra frankinja	2007
BB 14/07	Trška gora-vinograd	beli burgundec	2007
BB 15/07	Škocjan-vinograd	beli burgundec	2007
MF 16/07	Sremič-vinograd	modra frankinja	2007
BB 17/07	Sremič-vinograd	beli burgundec	2007
RF 1/08	Štorje-vinograd	refošk	2008
RF 2/08	Avber- vinograd	refošk	2008
M 3/08	Spodnja Branica - vinograd	merlot	2008
M 4/08	Krtinovca - vinograd	merlot	2008
BB 5/08	Krtinovca - vinograd	beli burgundec	2008
BB 6/08	Ravnje - vinograd	beli burgundec	2008
RF 7/08	Gažon - vinograd	refošk	2008
RF 8/08	Prade - vinograd	refošk	2008
BB 9/08	Izola - vinograd	beli burgundec	2008
RF 10/08	Sečovlje - vinograd	refošk	2008
M 11/08	Bilje - vinograd	merlot	2008

V letu 2007 smo testirali 17 populacij oidija iz dveh vinorodnih območij. Pet vzorcev je bilo odvzetih v Posavju, dvanajst pa v primorskem vinorodnem okolišu. V letu 2008 smo skupaj testirali enajst vzorcev oidija, vsi so bili odvzeti v primorskem vinorodnem okolišu.

2.5. Odpornost plevelov na

V okviru poljskih poskusov smo v letih 2007 in 2008, skladno s sprejetim programom opravili po štiri mikro poskuse v koruzi in ozimnih žitih in preverjali učinkovitost herbicidov ter ugotavljali morebiten pojav odpornosti posameznih plevelov na herbicide iz skupine triazinov in sulfonil sečnin (ALS inhibitorji). Poskuse smo zasnovali na lokacijah, kjer so imeli pridelovalci v preteklih letih težave z učinkovitostjo herbicidov in je obstajal sum na odpornost plevelov. V raziskavo smo vključili večino najpogosteje uporabljenih aktivnih snovi iz skupine triazinov (koruza) in ALS inhibitorjev (koruza in žita), ki jih v Sloveniji uporabljamo za zatiranje plevelov.

Poleg poljskih poskusov smo opravili testiranja odpornosti plevelov na nekatere herbicide z lončnimi poskusi v rastlinjaku in mrežniku. Iz sto (50 njiv v letu 2006 in 50 v letu 2007) naključno izbranih njiv iz različnih območij Slovenije smo v mesecu avgustu nabrali seme bele metlike (*Chenopodium album*) in srhkodlakavega ščira (*Amaranthus retroflexus*), z istih njiv pa smo pobrali tudi vzorce tal. Nabrano seme smo očistili in shranili ter ga spomladi 2008 posejali v lončke z namenom ugotavljanja odpornosti.

Za potrebe uvajanja laboratorijskih metod za detekcijo odpornosti na triazine in ALS inhibitorje smo v rastlinjaku posejali seme treh rastlinskih vrst: bele metlike (*Chenopodium album*) - (4 različne genotipe, po štiri vzorce na genotip), srhkodlakavega ščira (*Amaranthus retroflexus*) - (dva različna genotipa, po tri vzorce na genotip) in dodatno še sončnice (*Helianthus annuus*) - (dva različna genotipa, po tri vzorce na genotip). Iz omenjenih vzorcev smo izolirali DNK. Uporabili smo dve različni metodi: z magnetki in uporabo robota za izolacijo DNK (Qiagen, Kingfisher) ter s pomočjo kita za izolacijo DNK (Sigma). Tako pripravljene vzorce smo uporabili za določevanje odpornosti na triazine in ALS inhibitorje.

V nadaljevanju smo uporabili PCR metodo za vzorce sončnic (*Helianthus annuus*). Uporabili smo tri različne kombinacije začetnih oligonukleotidov ALS2, ALS3 in ALS5. Za pozitivno kontrolo smo vzeli vzorce vrste *Amaranthus retroflexus*, ker so bili začetni oligonukleotidi dizajnirani za to vrsto.

V letih 2007 ter 2008 smo na različnih območjih Slovenije (Podravje, Pomurje, Krško polje, Koroška, Savinjska dolina in Primorska) nabirali tudi seme na ALS inhibitorje, predvidoma občutljivih in odpornih plevelnih vrst: *Setaria glauca*, *S. viridis*, *Amaranthus retroflexus*, *A. hybridus*, *Echinochloa crus-galli*, *Chenopodium album*, *Ch. polyspermum* in nekatere druge. Seme smo nabirali na površinah s posevki, na katerih so pridelovalci uporabljali herbicide iz skupine triazinov in ALS inhibitorjev najmanj pet zadnjih let, medtem ko smo v primeru občutljivih populacij semena iskali njive, kjer se ti herbicidi v preteklosti po zagotovilih pridelovalcev niso uporabljali. Zbrano seme nam bo služilo za nadaljevanje preučevanja odpornosti različnih plevelnih vrst na herbicide.

3 REZULTATI IN KOMENTAR

Koloradski hrošč *Leptinotarsa decemlineata* je še vedno najpomembnejši škodljivec krompirja, ki povzroča defoliacijo krompirjevih rastlin in posledično izgube pridelka, zato je kemično zatiranje nujen ukrep. Škodljivec ima izredno veliko sposobnost prilagajanja okoljskim razmeram, kar velja tudi za insekticide in je v območjih z intenzivnim kmetovanjem razvil odpornost proti vsem skupinam sintetičnih insekticidov.

O prvih opažanjih glede sprememb v odzivanju koloradskega hrošča na arzenove pripravke so poročali že daljnega leta 1912 v ZDA, čeprav pojma »odpornost« takrat še niso poznali. Pridelovalci so zaradi slabega delovanja že takrat povečevali odmerke. S splošno uveljavitvijo DDT-ja v kmetijstvu v letu 1945 so bile težave začasno odpravljene, vendar so že po nekaj letih ponovno opazili zmanjšano občutljivost škodljivca. Odpornost na DDT se je razvila že po 14 do 24 generacijah. Od takrat naprej so v ZDA za zatiranje koloradskega hrošča uporabljali različne kemične spojine, z različnimi načini delovanja, vendar je hrošč sčasoma razvil odpornost proti vsem sintetičnim insekticidom. Še več, do pojavov odpornosti je prihajalo vedno hitreje.

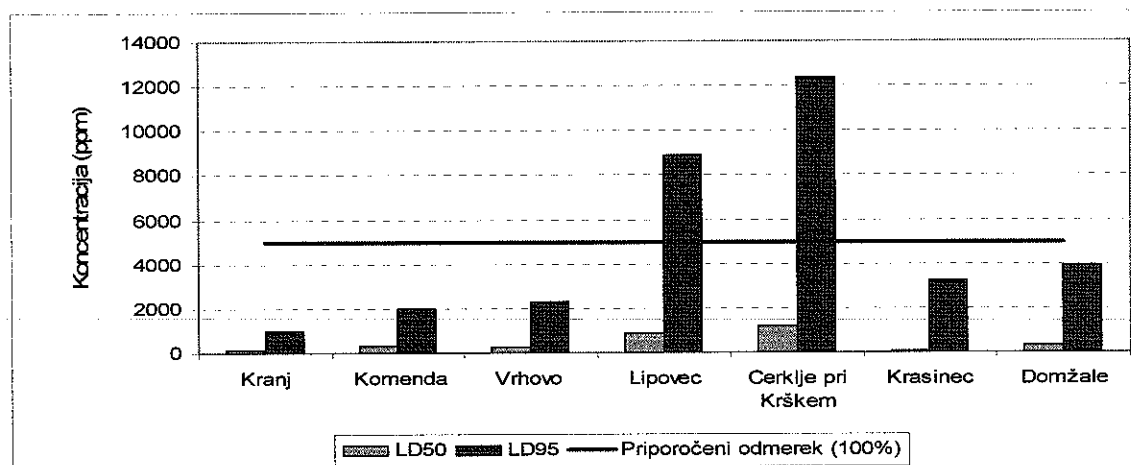
Odpornost koloradskega hrošča na insekticide so ugotavljali tudi v Evropi. Na območju bivše Jugoslavije so leta 1967 v Sloveniji in na Hrvaškem dokazali pojav rezistence proti kloriranim ogljikovodikom. Odpornost se je razvila 16 let po začetku njihove široke uporabe. Maceljski navaja, da je bila po podatkih IRAC (Insect Resistance Action Committee) odpornost koloradskega hrošča na snovi iz skupine organofosfornih insekticidov, karbamatov in piretroidov v letu 1993 velik problem v mnogih državah srednje in vzhodne Evrope (Hrvaška, Romunija, Češka, Slovaška, Poljska, Ukrajina in Rusija). Odpornost na iste skupine insekticidov so potrdili tudi v Nemčiji. V Sloveniji raziskav, ki bi potrdile ali ovrgle razvoj odpornih populacij koloradskega hrošča na omenjene skupine insekticidov ni bilo. S hitrim testom je bila v letih 1997 in 1998 pri populaciji koloradskega hrošča iz okolice Ljubljane nakazana možnost pojava odpornosti na fosalon in kvinalfos iz skupine organofosfornih insekticidov ter alfametrina iz skupine sintetičnih piretroidov.

Organofosforni insekticidi (OI) so po kemijski sestavi estri različnih fosforjevih kislin (fosforjeva, tiofosforjeva, ditiofosforjeva itn.) in so najobširnejša skupina insekticidov. V varstvu rastlin so se začeli uporabljati po letu 1945, pri nas v sedemdesetih letih prejšnjega stoletja. V organizmu škodljivcev motijo prevajanje živčnih dražljajev z oviranjem ali preprečevanjem delovanja encima acetilholin esteraze. Dobro delujejo na sesajoče in grizoče žuželke in tudi na pršice, zato se je njihova raba hitro razširila. Nekateri med njimi se lahko prenašajo po rastlini s transpiracijskim ali asimilacijskim tokom. V okolju se te snovi razmeroma hitro razgradijo, imajo pa večinoma veliko akutno toksičnost.

Piretroidi so insekticidi, ki so bili prvotno pridobljeni iz rastlinskih surovin. Zaradi slabe obstojnosti na svetlobi je industrija v sedemdesetih letih minulega stoletja razvila sintetične piretroide. To so živčni strupi, ki sodijo v skupino snovi, ki vplivajo na prenos natrijevih ionov preko celičnih membran. V zelo majhnih odmerkih delujejo proti žuželkam in nekateri tudi proti pršicam. Imajo širok spekter delovanja ter visoko in dolgotrajno učinkovitost.

Neonikotinoidi so mlajša skupina insekticidov, katerih prva aktivna snov imidakloprid je prišla na trg leta 1991. Kmalu so mu sledile še druge snovi iz iste skupine in enakim načinom delovanja. Neonikotinoidi delujejo tako, da z blokado transmitterjev impulzov (acetilholina) v sinapsah blokirajo prenos živčnih dražljajev med nevroni in tako povzročijo smrt žuželke.

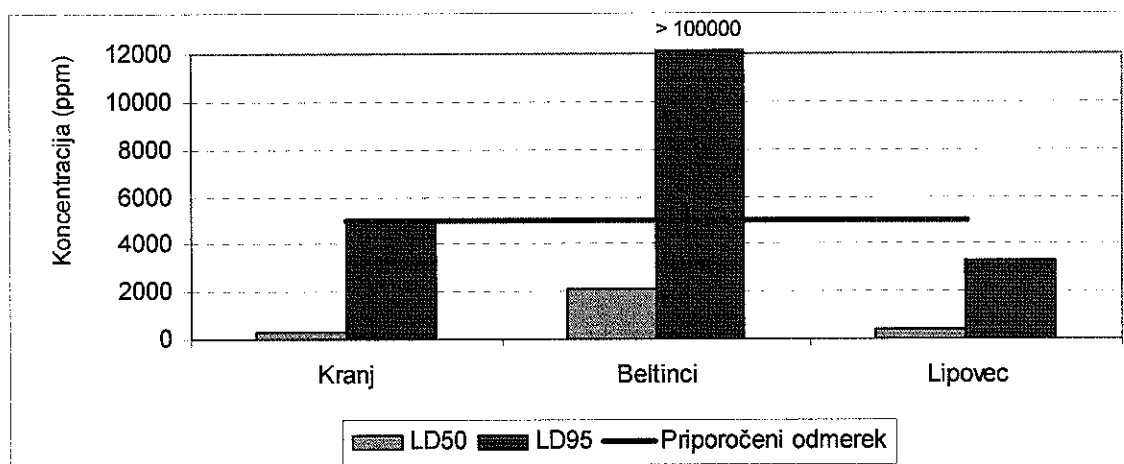
Insekticid klorpirifos (pripravek dursban E-48) smo preizkušali na desetih populacijah koloradskega hrošča, različnih starosti. V poskusih z mladimi ličinkami (L1/L2) so bile vrednosti LD₅₀ in LD₉₅ med populacijami različne. Na petih lokacijah so bile nižje glede na priporočeni odmerek za faktor 0,2 do 0,8. Pri populacijah z Dolenjske in Posavja pa so bile vrednosti LD₉₅ precej višje od priporočenih koncentracij, in sicer za 1,8 do 2,5 krat (slika 1), kar pomeni, da lahko govorimo o rezistenci.



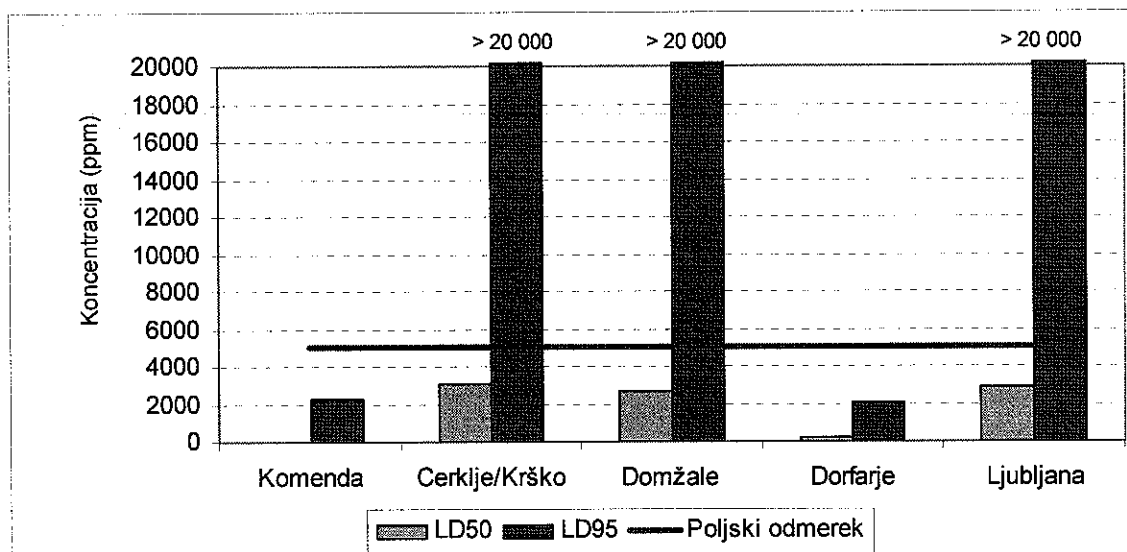
Slika 1: Prikaz vrednosti LD₅₀ in LD₉₅ za insekticid klorpirifos po lokacijah (ličinke L1/L2)

Tudi pri starejših ličinkah (L3/L4) so bile na dveh lokacijah vrednosti LD₉₅ skoraj enake ali višje od priporočene koncentracije in le na eni nižje (faktor 0,7). V Beltincih pa je bila vrednost LD₉₅ kar za 20 krat višja od priporočenega odmerka.

Tudi v poskusu z odraslimi hrošči smo ugotovili razmeroma slabo delovanje insekticida pri treh populacijah, v Cerkljah, Ljubljani in v Domžalah. Vrednosti za LD₉₅ so bile v teh krajih od 32 do 126 krat višje od priporočenega odmerka.

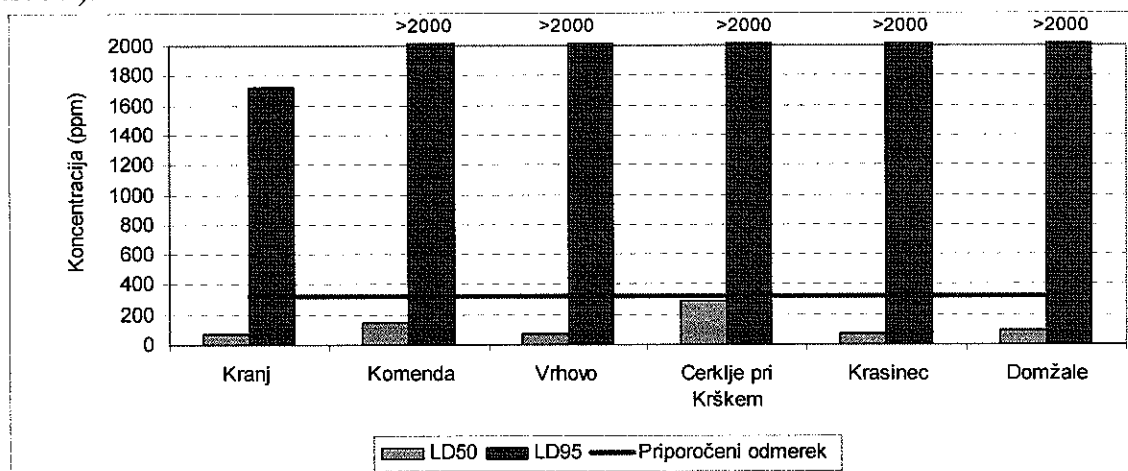


Slika 2: Prikaz vrednosti LD₅₀ in LD₉₅ za insekticid klorpirifos na treh lokacijah (ličinke L3/L4)

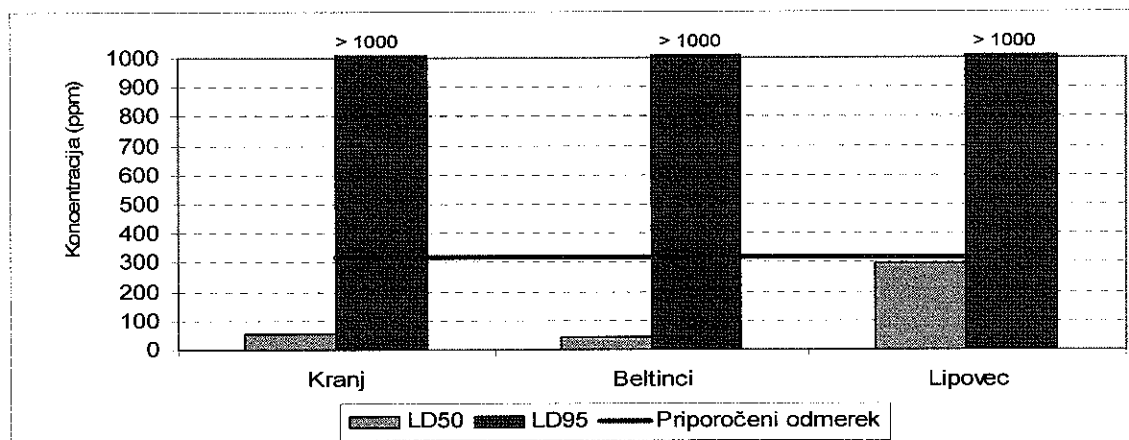


Slika 3: Prikaz vrednosti LD₅₀ in LD₉₅ za insekticid klorpirifos na petih lokacijah (hrošči)

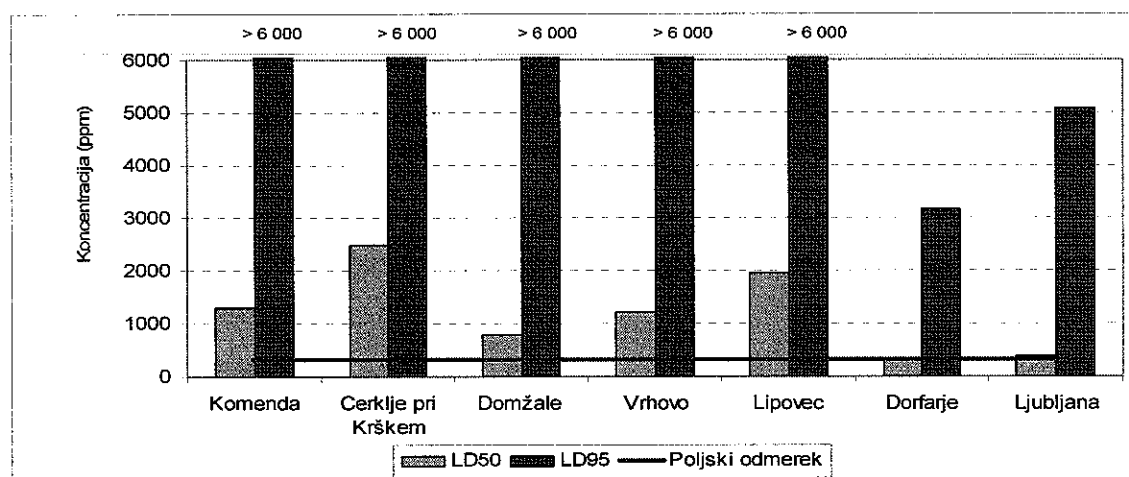
Sintetični piretroid lambda-cihalotrin smo preskušali v 16 poskusih na desetih populacijah koloradskega hrošča, različnih starosti. Za razliko od klorpirifosa, ki je pri nekaterih populacijah še nudil dobro učinkovitost, smo za lambda-cihalotrin na vseh preskušanih populacijah in vseh starostih žuželk ugotovili slabo delovanje, kar kaže na visoko stopnjo odpornosti hrošča nanj. Pri poskusu z mladimi ličinkami (L1/L2) so bile vrednosti LD₉₅ od priporočene koncentracije (320 ppm) višje za 5,4 do 12,5 krat, pri ličinkah L3/L4 za 3,6 do 90,7 krat. Pri odraslih hroščih pa je ta faktor znašal od 9,9 (Dorfarje) do 1750 (Cerklje pri Krškem).



Slika 4: Prikaz vrednosti LD₅₀ in LD₉₅ za insekticid lambdacihalotrin pri ličinkah stadija L1/L2 po različnih lokacijah

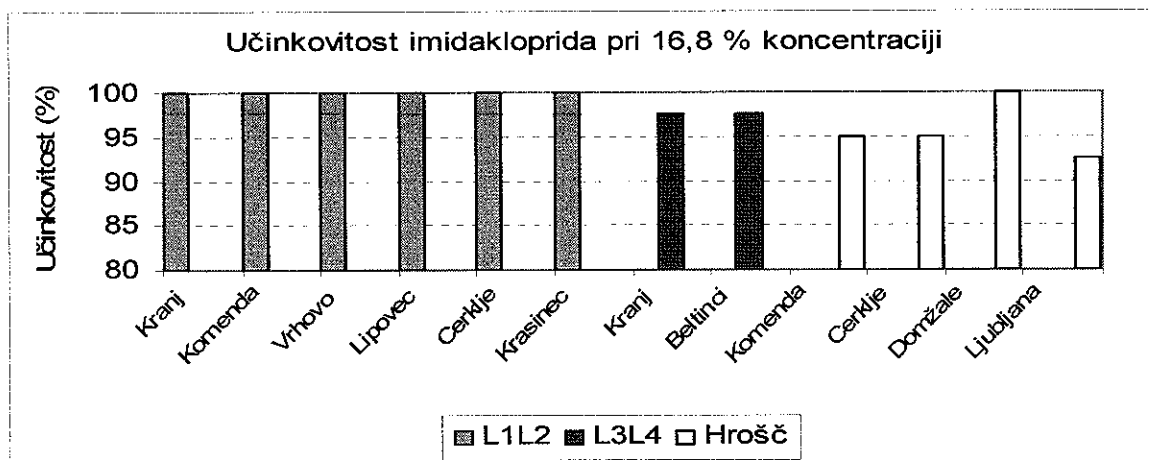


Slika 5: Prikaz vrednosti LD₅₀ in LD₉₅ za insekticid lambdacihalotrin pri ličinkah stadija L3/L4 na treh lokacijah



Slika 6: Prikaz vrednosti LD₅₀ in LD₉₅ za insekticid lambdacihalotrin pri hroščih na različnih lokacijah

Insekticid imidakloprid je pri vseh poskusnih populacijah in vseh razvojnih stadijih pokazal odlično delovanje na koloradskega hrošča, tudi pri najnižji koncentraciji uporabljeni v poskusu. Zaradi tako velike smrtnosti žuželk, rezultatov nismo mogli analizirati s Probit analizo in izračunati vrednosti LD₅₀ in LD₉₅. Izračunali smo samo korigirano smrtnost za najnižjo preizkušano koncentracijo, ki je bila 16,8 % priporočenega poljskega odmerka. Za ličinke L1/L2 je bila smrtnost na vseh lokacijah 100 %, za ličinka L2/L3 je bila v Kranju in Beltincih 97,5 %, za hrošče pa v Ljubljani 93,5 %, v Komendi in Cerkljah 95 % in v Domžalah 100 %. Rezultati kažejo na to, da je priporočeni odmerek imidakloprida za zatiranje koloradskega hrošča velik in da bi odlično učinkovitost lahko dosegli že z bistveno nižjim odmerkom.



Slika 7: Učinkovitost imidakloprida v koncentraciji 210 ppm (16,8 % priporočenega poljskega odmerka) za različne razvojne stadije koloradskega hrošča

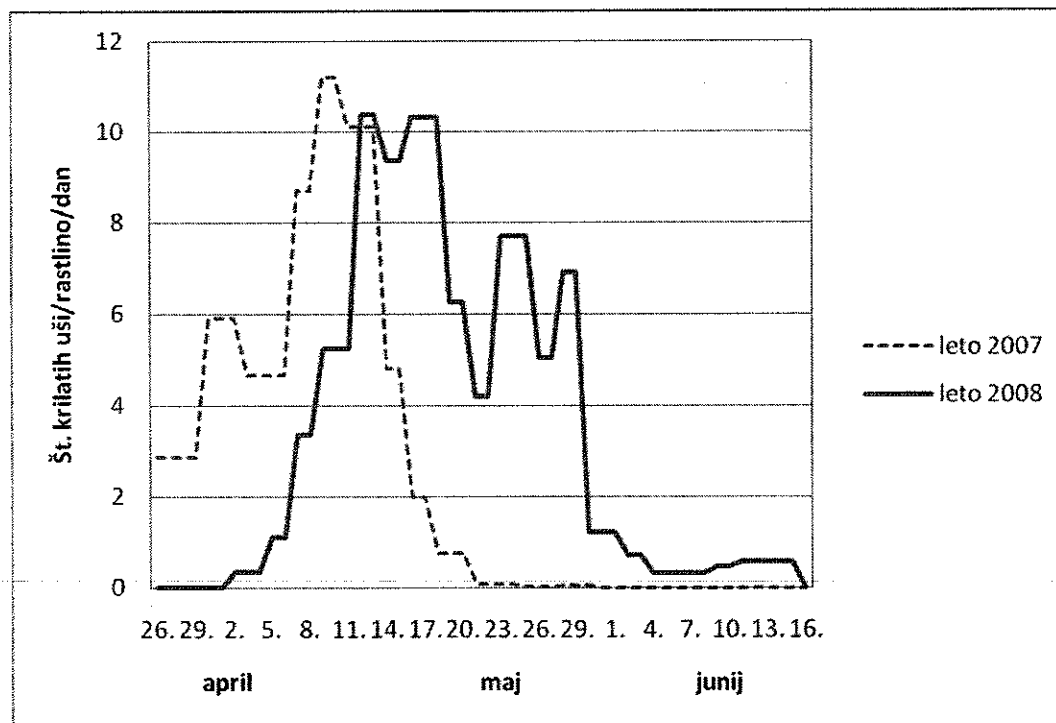
Ugotovili smo, da obstajajo razlike v občutljivosti slovenskih populacij koloradskega hrošča na insekticide iz skupine organofosfornih insekticidov, sintetičnih piretroidov in neonicotinooidov. Odpornost na organofosforni insekticid klorpirifos smo dokazali pri večini analiziranih populacij, pri vseh populacijah smo ugotovili tudi visoko stopnjo odpornosti na sintetični piretroid lambda-cihalotrin. Učinkovitost neonicotinskega pripravka imidakloprid pa je bila odlična na vseh lokacijah in pri vseh razvojnih stadijih hrošča.

Taki rezultati do bili deloma pričakovani. Organofosforni insekticidi so se za zatiranje koloradskega hrošča pri nas uporabljali približno trideset let. Pred nekaj leti je bil klorpirifos zaradi toksikoloških lastnosti umaknjen iz prometa. Sintetični piretroidi so v uporabi od konca osemdesetih leti prejšnjega stoletja in so še vedno pomembna skupina insekticidov. Proti koloradskemu hrošču je trenutno registriranih šest insekticidov iz te skupine od skupno dvanajstih pripravkov.

V zadnjih letih so proti koloradskemu hrošču najbolj učinkoviti neonicotinski pripravki. Imidakloprid se sicer proti temu škodljivcu več ne uporablja, so pa trenutno pri nas registrirani trije pripravki iz iste skupine, to so actara 25 WG (a.s. tiametoksam), calypso SC 480 (tiakloprid) in mospilan 20 SG (a.s. acetamiprid). Zaradi odlične učinkovitosti jih pridelovalci krompirja zadnja leta tudi najpogosteje uporabljajo.

Kljub trenutno dobri učinkovitosti je razvoj rezistence sčasoma neizogiben (v ZDA so že potrdili odporne populacije koloradskega hrošča na imidakloprid), zato si je treba prizadevati za čimbolj dolgo »zadrževanje« pojava odpornosti. Odlična učinkovitost neonicotinskih insekticidov ne sme zavesti pridelovalcev k enostranski uporabi omenjenih sredstev. Eden od pglavitnih ukrepov za preprečevanje (zadrževanje) pojavov odpornosti je izmenična raba insekticidov iz različnih skupin oz. z različnimi mehanizmi delovanja in zatiranje škodljivcev v mladih razvojnih stadijih, ko so le ti najbolj občutljivi.

Hmeljeva listna uš (*Phorodon humuli*) je poleg navadne (hmeljeve) pršice (*Tetranychus urticae*) pomemben škodljivec hmelja, ki se pojavlja vsako leto in s svojim sesanjem povzroča neposredno škodo (zmanjšanje pridelka hmelja) kot tudi posredno škodo s prenosom virusa Hop mosaic carlavitus (HMV). Krilate oblike hmeljeve listne uši preletijo iz zimskega gostitelja, domače češplje, običajno konec aprila oziroma v začetku maja (slika 8). Prelet krilatih uši traja v povprečju 46 dni.



Slika 8: Prelet krilatih uši iz zimskega gostitelja (koščičarji) na letnega gostitelja (Hmelj), Žalec IHPS

Hmeljeva listna uš ima v sorazmerno kratkem obdobju (2 meseca) 6-8 generacij/leto. To je tudi eden od razlogov za možen pojav odpornih uši na pogosto uporabljene insekticide.

Za zatiranje hmeljeve listne uši se že preko 10 let uporabljata dva insekticida s sistemskim načinom delovanja na podlagi a.s. pimetrozin (chess 50 WG) in a.s. imidakloprid (confidor 200 SL). Med njima se delno kolobari, običajno pa hmeljarji posegajo bolj po slednjem. V nasadih hmelja, na posameznih rastlinah hmelja, smo večkrat zasledili slabše delovanje insekticida confidor 200 SL za katere smo predpostavljali, da je hmeljeva uš razvila odpornost na njegovo a.s. imidakloprid. To smo želeli preveriti v laboratoriju v nadzorovanih razmerah.

Pri preverjanju biološke učinkovitosti različnih koncentracij imidakloprida (confidor) na hmeljevo listno uš smo ugotovili razlike v delovanju na posamezne populacije listnih uši, ki so izvirale iz različnih hmeljarskih območij. Najboljšo učinkovitost imidakloprida smo dosegli na lokaciji Šmartno pri Slovenj Gradcu (zadovoljiva učinkovitost pri vseh preizkušanih koncentracijah) (tabela 5). Omenjena lokacija se ne nahaja v Savinjski dolini, kjer se prideluje največ hmelja. Prav tako se na tej lokaciji že vrsto let dosledno izvaja antirezistenčna strategija, ki temelji na izmenični rabi insekticidnih snovi (imidakloprid in pimetrozin). Najslabše delovanje preizkušanih insekticidnih snovi smo zaznali pri ušeh nabranih v okolici Mozirja, kjer so vrsto let zapovrstjo uporabljali le insekticid confidor. Na temelju predstavljenih rezultatov lahko sklenemo, da hmeljeva listna uš ni odporna na imidakloprid, da pa se v nekaterih hmeljiščih kažejo znamenja pojemanja njegove biološke učinkovitosti. Domnevamo, da je vzrok za to dolgoletna raba imidakloprida na istih površinah, vzroke pa lahko iščemo tudi v napakah pri aplikaciji teh sredstev kot tudi spremenjenih podnebnih razmerah pri nas. Znano je namreč, da je hmelj v stresnih situacijah manj dovzeten za sprejem in nadaljnji transport aktivnih snovi s sistemskim delovanjem po rastlini. Posledice višjih temperatur se kažejo tudi v hitrejšem prehajanju rastlin hmelja v

generativno fazo – fazo cvetenja, v okviru katere se še dodatno poslabša učinkovitost posameznih aktivnih snovi.

Tabela 5: Povprečna biološka učinkovitost imidakloprida (confidor 200 SL) na hmeljevo listno uš (*Phorodon humuli*) v laboratoriju letih 2007-2008

Lokacija	Koncentracije (%)/biološka učinkovitost po Schneider-Orelli (%)						
	0,001	0,00175	0,00359	0,0175	0,01	0,02	0,12225
Žalec (IHPS)	83,6	86,6	99,2	100,0	100,0	100,0	100,0
Mozirje	65,7	75,3	84,3	92,1	94,6	95,2	100,0
Gomilsko	80,2	81,6	87,5	93,1	100,0	100,0	100,0
Šmartno pri SG	87,4	89,2	99,1	100,0	100,0	100,0	100,0
Povp.	79,2	83,2	92,5	96,3	98,7	98,8	100,0

Tabela 6: Povprečna biološka učinkovitost pimetrozina (chess 50 WG) na hmeljevo listno uš (*Phorodon humuli*) v laboratoriju letih 2007-2008

Lokacija	Koncentracije (%)/biološka učinkovitost po Schneider-Orelli (%)					
	0,0005	0,001	0,003	0,005	0,02	0,03
Žalec (IHPS)	62,1	65,1	69,8	72,8	73,6	87,3
Mozirje	58,6	62,1	69,2	69,4	72,9	84,6
Gomilsko	63,4	64,1	70,1	75,4	75,1	87,4
Šmartno pri SG	69,2	72,3	76,2	80,4	85,9	91,5
Povp.	63,3	65,9	71,3	74,5	76,9	87,7

Tudi pri preučevanju morebitne odpornosti hmeljeve listne uši ma pimetrozin izstopa lokacija Šmartno pri Slovenj Gradcu, saj se je zaradi že omenjenega antirezistenčnega programa tudi v tem primeru izkazalo, da preizkušano sredstvo bolje deluje oziroma je učinkovitejše kot na ostalih preučevanih lokacijah (tabela 6). Sicer pa je bil pimetrozin na splošno nekoliko slabši kot imidakloprid, saj z njim v nobenem primeru nismo presegli 90 % učinkovitosti, niti pri najvišji koncentraciji.

Insekticid Karate Zeon 5 CS (lambda-cihalotrin) deluje kontaktno. Uporabili smo ga v treh (3) različnih koncentracijah in sicer 0,01; 0,02 in 0,03 %, kot kontrolo smo uporabili vodo. Učinkovitost lambda-cihalotrina smo ugotavljali na ušeh nabranih v Žalcu (Savinjska dolina) in sicer na različnih razvojnih stopnjah uši (na mladih, komaj izleglih in na starejših ušeh). Ugotovili smo, da z višjo koncentracijo preučevanega insekticida dosežemo nižjo učinkovitost. S poskusom smo dokazali, da so starejši osebki hmeljeve listne uši razvili višjo odpornost na omenjen insekticid kot mlajši, pri katerih je bila umrljivost večja.

Delovna koncentracija pripravka Confidor (imidakloprid) v nasadih hmelja je 0,2 % oziroma v primeru zmanjšane uporabe vode 0,12 %. Na temelju naših preučevanj lahko sklenemo, da hmeljeva listna uš še pri nobeni navedeni koncentraciji ni razvila odpornosti (preglednica 1). Nekoliko slabšo učinkovitost smo zaznali pri pimetrozinu, pri katerem učinkovitost v nobenem primeru ni presegla 90 % (tabela 5). Z ozirom na predstavljene rezultate in težave naših pridelovalcev, ki se kažejo predvsem v nezadostnem naboru učinkovitih aktivnih snovi za zatiranje hmeljeve listne uši, bomo morali v prihodnje še naprej spremljati dogajanja,

vezana na pojav morebitne odpornosti na uporabljena fitofarmacevtska sredstva. Na temelju rezultatov tovrstnih spremljanj bo mogoče v prihodnje pravočasno zaznati pojemanje učinkovitosti uporabljenih aktivnih snovi za zatiranje škodljivih organizmov in se ustrezno odzvati.

Glivi *M. laxa* in *M. fructigena* povzročata propadanje cvetov, razjede na poganjkih in gnitje plodov pri številnih vrstah sadnega drevja. Močne okužbe, povezane s propadanjem cvetov in vej, so pogoste zlasti pri višnjah, marelicah in jablanah. Razvijajoči se plodovi so razmeroma odporni, z zrelostjo pa postajajo vse bolj občutljivi. Pri koščičarjih so pogoste tudi latentne okužbe nedozorelih plodov, ki se pokažejo šele ob zorenju. Tedaj nastane največja gospodarska škoda, gnitje pa se nadaljuje tudi v skladišču. Za preprečevanje bolezni je poleg ustreznih tehnoloških in sanitarnih ukrepov nujna redna uporaba fungicidov.

V strokovni literaturi poročajo o pojavu odpornosti vrst iz rodu *Monilinia* na fungicide iz skupine benzimidazolov že od leta 1976 (Jones, Ehret, 1976). Po daljši dobi intenzivne uporabe so pojav odpornosti zasledili tudi pri fungicidih, ki so derivati triazola (DMI fungicidi), npr. propikonazol (Schnabel et al., 2003). Ker intenzivna in dolgotrajna uporaba ozkega izbora fungicidov slej ko prej vodi do nastanka odpornosti, je potrebno s čim bolj enostavnimi tehnikami stalno spremljati raven odpornosti populacij vrst iz rodu *Monilinia* na ključne fungicide, ki ji uporabljamo za njihovo zatiranje (Amiri in sod., 2008).

Rezultate delovanja izbranih fungicidov na prirast micelija gliv *M. laxa* in *M. fructigena* povzemamo v tabelah 7 in 8. Predstavljeni so rezultati meritev po osmih dneh inkubacije. Meritve smo sicer opravili v treh časovnih razmikih, vendar je bil prirast micelija po petih dneh zelo majhen in razlike med izolati neizrazite, po dvanajstih dneh pa so nekateri izolati že prerasli celotno površino petrijevke.

Rezultati kažejo, da sta tako priporočeni kot polovični odmerek fungicida teldor povsem zavrla rast vseh preizkušenih izolatov. Podobno je bila tudi pri fungicidu kidan inhibicija prirasta micelija od 92,9 do 100 %, razen pri izolatu vrste *M. laxa* 08-5159, ki je na gojišču z dodanim fungicidom dosegel približno polovico prirasta kontrolne kolonije. Nasprotno pa je imel fungicid chorus opazno manjši vpliv na prirast micelija preizkušenih izolatov. Inhibicija rasti za 60 ali več odstotkov je bila dosežena le pri osmih izolatih vrste *M. laxa* (40 %) in enem samem izolatu vrste *M. fructigena* (10 %). Pri izolatih vrste *M. fructigena* je bila inhibicija prirasta micelija na gojišču z dodanim fungicidom chorus z izjemo enega izolata zelo šibka, pri štirih od desetih izolatov pa je bil prirast celo večji kot pri kontroli, najbolj izrazito pri izolatu 07-389, kjer je bil več kot polovico večji kot pri kontroli.

Tabela 7: Inhibicija rasti micelija izolatov glive *Monilinia laxa* na gojiščih z dodatkom različnih koncentracij fungicidov teldor, kidan in chorus po osmih dneh inkubacije

Izolat	Inhibicija prirasta micelija (%) ^a					
	teldor	teldor	kidan	kidan	chorus	chorus
	1,5 ml/l	0,75 ml/l	3 ml/l	1,5 ml/l	0,2 g/l	0,1 g/l
07-458	100	100	100	98,75	65,0	64,0
07-259-14	100	100	100	100	67,2	57,2
07-257-2	100	100	100	100	67,0	60,0
07-259-10	100	100	100	100	55,0	52,0

07-457	100	100	100	100	47,0	55,0
07-259-12	100	100	100	100	54,5	48,5
07-259	100	100	100	100	67,7	61,8
M 185	100	100	100	97,9	-	-
M 15/04	100	100	100	100	67,7	65,7
M 250	100	100	96,7	95,8	69,8	49,9
M 294/04	100	100	97,4	100	57,5	44,6
M 255	100	100	99,1	92,9	67,4	56,1
M 321	100	100	100	100	14,0	11,1
08-8526	100	100	100	100	- 12,2	- 4,2
08-5141	100	100	100	100	4,5	1,8
08-5146	100	100	99,4	100	- 13,6	0,1
08-5158	100	100	100	98,8	- 11,5	5,2
08-5159	100	100	67,5	66,4	0,78	4,5
08-5366	100	100	100	100	- 3,8	1,0
08-5148	100	100	100	100	- 9,1	- 0,7
08-5365	100	100	98,1	99,1	- 4,49	- 3,3

^a podatki so povprečja štirih ponovitev / izolat

Tabela 8: Inhibicija rasti micelija izolatov glive *Monilinia fructigena* na gojiščih z dodatkom različnih koncentracij fungicidov teldor, kidan in chorus po osmih dneh inkubacije

Izolat	Inhibicija prirasta micelija (%) ^a					
	teldor	teldor	kidan	kidan	chorus	chorus
	1,5 ml/l	0,75 ml/l	3 ml/l	1,5 ml/l	0,2 g/l	0,1 g/l
07-389	100	100	100	100	- 56,8	- 72,7
07-259-8	100	100	100	100	74,4	65,0
07-258A	100	100	100	100	0	- 49,1
M 287/04	56,7	59,0	100	94,0	- 21,5	- 31,2
M 164	100	100	100	100	- 15,9	- 30,3
M 330	100	100	100	87,3	34,7	- 5,0
M 317/04	100	100	100	98,0	2,0	2,0
M 260	100	100	98,8	100	45,8	51,3
08-5367	100	100	99,1	100	13,3	- 27,8
M 433	100	100	100	100	- 22,1	- 6,8

^a podatki so povprečja štirih ponovitev / izolat

V opravljeni raziskavi smo ugotavljali morebiten pojav odpornosti izolatov gliv *M. laxa* in *M. fructicola* na fungicide iz skupine dikarbosimidov, anilinopirimidinov in hidroksianilidov (pripravki teldor, kidan in chorus). Aktivnih snovi iz skupine benzimidazolov in DMI fungicidov (inhibitorji demetilacije), ki so se v preteklih letih v Sloveniji veliko uporabljali za varstvo rastlin pred glivami iz rodu *Monilinia*, in sodijo v skupino fungicidov z visokim oziroma srednjim tveganjem za pojav rezistence, v poskusu nismo uporabili, ker v letu 2008 v Sloveniji nobena od teh snovi ni več imela dovoljenja za uporabo. Uporabili smo test v petrijevkah, standardno metodo za ugotavljanje odpornosti

patogenih gliv na fungicide (Ann., 1991). Metoda je dolgotrajna in draga, saj zahteva pripravo velikega števila petrijevok. V zadnjem letu so Amiri in sod. (2008) razvili postopke, ki so enostavnejši in hitrejši a primerljivi, saj ravno tako temeljijo na merjenju prirasta glive na gojišču.

Uporabljena metoda testiranja je pokazala slabši odziv nekaterih izolatov vrst *M. laxa* in *M. fructigena* na pripravek chorus, saj je bila inhibicija prirasta micelija za 60 ali več odstotkov dosežena le pri 27 % izolatov, pri 30 % izolatov pa je dodatek priporočenega odmerka tega fungicida celo pospešil rast micelija, kar kaže na morebitno odpornost izolatov. Pri vrsti *M. laxa* smo slabšo občutljivost na fungicid chorus zasledili predvsem pri izolatih iz nekaterih intenzivnih nasadov breskev na Goriškem, pri vrsti *M. fructigena* pa ni bilo razlik glede na izvor izolatov (intenzivni / ekstenzivni nasadi oz. vrtovi).

Oidij vinske trte *Uncinula necator* je gospodarsko izjemno pomembna glivična bolezen, ki se v Sloveniji skoraj redno pojavlja predvsem v primorskih in posavskih vinogradih, v posameznih letih pa tudi v Podravju. Za varstvo vinske trte pred to boleznijo uporabljajo vinogradniki med drugim tudi sistemsko delujoče triazolne in strobilurinske pripravke. Na temelju analize tveganja (FRAC), ki se nanaša na možnost pojava odpornosti glive *Uncinula necator* na strobilurinske oziroma triazolne fungicide je bilo ugotovljeno, da za prve obstaja visoko, za druge pa srednje tveganje. Pri strobilurinskih pripravkih se odpornost lahko pojavi na celotno skupino, pri triazolnih fungicidih pa je možna navzkrižna odpornost.

V posameznih letih je oidij vinske trte težko obvladljiv, še posebej v območjih kjer prevladujejo mile zime (Primorska, Posavje) in kjer so v času intenzivne rasti vinske trte pogosta obdobja toplega vremena z močnimi rosami in visoko zračno vlago. Veliko naših pomembnih vinskih sort je občutljivih na to bolezen, posebej občutljivi so različni burgundci (pinoti), refošk in frankinja. V okviru biološkega testiranja učinkovitosti nekaterih aktivnih snovi proti oidiju smo že v letih 1990-1995 ugotovili pojemajoče delovanje triadimefona, predvsem na Koprskem. Medtem ko smo s pripravki na osnovi triadimefona takrat dosegali komaj 24 % učinkovitost, pa so bili drugi triazoli učinkovitejši, dosežena je bila okoli 95 % učinkovitost. Po večletni samostojni rabi so vinogradniki začeli triadimefon opuščati in ga nadomeščati z aktivnimi snovmi (pripravki) iz skupine triazolov, pozneje tudi s strobilurinskimi in nekaterimi drugimi pripravki. Domnevamo, da so močnejši pojavi oidija v posameznih letih posledica pomanjkljive tehnologije zatiranja boleznih ali pojava odpornih sojev glive *U. necator*.

V okviru projekta smo ugotavljali stanje odpornosti glive na izbrane fungicide iz omenjenih dveh skupin. Ugotovili smo, da je bil delež kaljivih spor pri vseh uporabljenih koncentracijah fungicidov nižji od kontrole, med koncentracijami pa ni bilo razlik v kaljivosti. Znotraj preučevanih populacij, torej med ponovitvami, je bila zaznana velika variabilnost, zato na temelju naših laboratorijskih testiranj ne moremo z gotovostjo potrditi obstoj odpornih sojev oidija na preskušana fitofarmacevtska sredstva. Testiranja smo opravili na populacijah iz razmeroma majhnega števila okolij, zato je možno, da nismo zajeli odpornih populacij glive. Z ugotavljanjem odpornosti oidija na fungicide iz skupine triazolov in strobilurinov bomo v prihodnje še nadaljevali in se osredotočili predvsem na vinograde, kjer bolezen oidij vinske trte vinogradniki težko obvladujejo.

Pleveli: Pri preverjanju učinkovitosti herbicidov iz skupine triazinov in sulfonil sečnin (ALS inhibitorji) v koruzi oziroma ozimnih žitih v okviru poljskih poskusov nismo ugotovili odpornosti preučevanih plevelov (bela metlika, *Chenopodium album* in srhokodlakavi ščir,

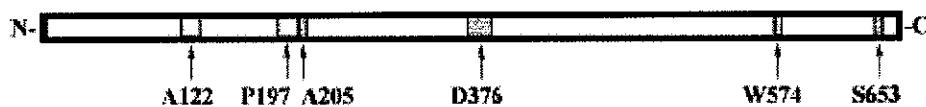
Amaranthus retroflexus) na preizkušane herbicide.

Odpornosti obravnavanih plevelnih vrst na preučevane herbicide nismo ugotovili niti v okviru lončnih poskusov, ki smo jih opravili v nadzorovanih rastihih razmerah v rastlinjaku. Mnenja smo, da je takšen rezultat, predvsem pri preverjanju odpornosti plevelov na atrazin, najverjetneje posledica prenehanja uporabe čistega atrazina v Sloveniji pred več kot 10 leti ter uvajanja Slovenskega kmetijsko okoljskega programa, ki med drugim temelji na uvajanju ustreznega kolobarja. Sklepamo, da je lahko odpornost bele metlike in srhkodlakavega ščira na atrazin v posameznih primerih sicer v Sloveniji še vedno prisotna, vendar pa ne predstavlja pomembnejšega vzroka za preštevne zapleveljene njive, na katerih pridelujejo koruzo.

Odpornost rastlin na herbicide iz skupine triazinov in feniluree je posledica mutacije nastale na psbA genu, ki je odgovoren (Hirschberg in MacIntosh, 1983) za tilakoidni membranski protein (D₁) v kloroplastni DNA. Polipeptid D₁ sodeluje pri transportu elektronov v redukcijskem procesu fotosistema II in nanj se veže herbicid. V odpornih organizmih ne prihaja do vezave herbicida na D₁ protein. Odpornost na triazinske herbicide je posledica točkovne mutacije psbA gena (SNP) na mestu 270, kjer je gvanin namesto adenina. Mutacija povzroči nastanek novega restriksijskega mesta značilnega za restriksijsko endonukleazo BstX 1. Analiza prisotnosti restriksijskega mesta BstX 1 omogoča ločevanje odpornih in neodpornih rastlin na herbicid.

Po izolaciji rastlinske DNA (bela metlika - *Chenopodium album*; srhkodlakavi ščir *Amaranthus retroflexus*), smo v polimerazni verižni reakciji s pomočjo specifičnih začetnih nukleotidov namnožili fragment psbA gena dolžine 963 bp (primer *Brassica* sp.) in ga v naslednjem koraku razrezali z BstX 1 endonukleazo. Glede na prisotnost ali odsotnost dveh fragmentov dolžine 764bp in 199bp, ki sta značilna za odporne vrste rastlin, smo potrdili ali ovrgli odpornost na herbicid iz skupine triazinov in feniluree. V proučevanih vzorcih rastlin odpornosti na omenjene herbicide nismo zasledili.

Odpornost na herbicide, ki so inhibitorji ALS, je prav tako kot odpornost na triazine pogojena s točkovnimi mutacijami. Posledica mutacij je sprememba aminokislinske sestave ALS proteina. Na sliki 9 so prikazana mesta, kjer prihaja do mutacij.



Slika 9: Linearni prikaz ALS proteina in lokacija aminokislin (A, alanin; D, aspartat; P, prolin; S, serin; W, triptofan) – možna mesta mutacij

S pomočjo metod na osnovi polimerazne verižne reakcije je možno te mutacije natančno opredeliti. V PCR reakciji se najprej namnoži DNA odsek, ki vključuje ALS gen. Sledi sekveniranje PCR produkta. McNaughton in sod. (2005) so na ta način odkrili rezistentne alele pri vrsti *Amaranthus retroflexus* in vrsti *Amaranthus powelli* Wats. Določili so različne mutacije v ALS genu, ki povzročajo odpornost na herbicid.

V okviru preučevanja odpornosti na herbicide, ki so inhibitorji ALS, smo uporabili, sončnice (*Helianthus annuus*). Za namnoževanje odsekov DNK, ki so povezani z odpornostjo, smo v PCR reakciji uporabili tri različne kombinacije začetnih oligonukleotidov: ALS2, ALS3 in ALS5 (McNaughton in Tardif, 2005). Za pozitivno kontrolo smo vzeli vzorce vrste *Amaranthus*, ker so bili začetni oligonukleotidi dizajnirani za to vrsto. Produkta vzorcev

sončnic, dobljene z različnimi začetnimi oligonukleotidi, smo sekvenirali. Nukleotidna zaporedja namnoženih fragmentov smo primerjali s sekvencami objavljenimi v bazah podatkov in ugotovili, da je največja podobnost dobljenih nukleotidnih zaporedij z genom za encim sintetaza acetohidroksi kisline (AHAS2), ki je povezan z odpornostjo na herbicide na osnovi imidazolinona ali sulfoniluree. Glede na dobljene rezultate bi bilo potrebno metodo dodatno optimizirati in vključiti večje število rastlin kot tudi večje število začetnih oligonukleotidov, ki bi bili specifični za določeno rastlinsko vrsto.

4 SKLEPI

Ugotovili smo večje število populacij koloradskega hrošča, katere so razvile odpornost na preizkušane aktivne snovi: na organofosforni insekticid klorpirifos in sintetični piretroid lambda-cihalotrin. Učinkovitost neonikotinskega pripravka confidor (imidaklopid) ni bila prizadeta v nobenem primeru oziroma je bila odlična na vseh preizkušanih lokacijah in pri vseh razvojnih stadijih koloradskega hrošča.

Pri preučevanju odpornosti hmeljeve listne uši na v praksi uporabljane insekticidne snovi smo ugotovili pojemajoče delovanje pimeprozina (chess 50 WG). Ugotovili smo tudi, da omenjena uš sicer še ni odporna na imidaklopid, da pa se v nekaterih hmeljiščih že kažejo znamenja pojanja njegove biološke učinkovitosti.

Rezultati testiranja fungicidnega delovanja iprodiona (kidan), ciprodinila (chorus 75 WG) in fenheksamida (teldor WP 50) na glivi *M. fructigena* in *M. laxa* kažejo, da sta priporočeni kot tudi polovični odmerki fungicida teldor povsem zavrla rast preizkušenih izolatov gliv. Tudi pri fungicidu kidan je bila učinkovitost še sorazmerno dobra, razen pri enem izolatu vrste *M. laxa*. Nasprotno pa lahko na temelju naših testiranj v primeru fungicida chorus že lahko govorimo o odpornosti preučevanih gliv na to sredstvo.

Pri preverjanju učinkovitosti herbicidov iz skupine triazinov in sulfonil sečnin (ALS inhibitorji) v koruzi oziroma ozimnih žitih nismo ugotovili odpornosti preučevanih plevelov (bela metlika, *Chenopodium album* in srhkodlakavi ščir, *Amaranthus retroflexus*) na preizkušane herbicide. Odpornosti na obravnavane herbicide nismo zasledili niti s pomočjo polimerazne verižne reakcije.

Na splošno lahko v prihodnje pričakujemo porast problemov zaradi odpornosti na fitofarmacevtska sredstva. Izbira pripravkov je namreč vse manjša. Mnoga uveljavljena sredstva so bila v zadnjih letih že izločena iz uporabe, s predlagano revizijo evropske direktive 91/414 pa utegne podobna usoda doleteti še cele skupine fitofarmacevtskih sredstev. Tako ne bo na voljo dovolj pripravkov z različnimi mehanizmi delovanja. Posledično lahko pričakujemo hitrejši razvoj odpornosti, kot odgovor na slabšo učinkovitost pa višje uporabljene odmerke ali nelegalno rabo fitofarmacevtskih pripravkov.