

Oznaka poročila: ARRS-CRP-ZP-2012-05/21

ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH CILJNEGA RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	V4-1068
Naslov projekta	Biofumigacija kot alternativa kemičnem zatiranju talnih škodljivih organizmov
Vodja projekta	20162 Sebastjan Radišek
Naziv težišča v okviru CRP	5.06.15 Razvoj alternativnih, okolju bolj prijaznih načinov preprečevanja bolezni in škodljivcev pri kmetijskih kulturah, ki zmanjšujejo tveganje za okolje
Obseg raziskovalnih ur	618
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	10.2010 - 09.2012
Nosilna raziskovalna organizacija	416 Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	401 Kmetijski inštitut Slovenije 481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.03 Rastlinska produkcija in predelava 4.03.04 Naravovarstveno kmetijstvo
Družbeno-ekonomski cilj	08. Kmetijstvo

2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	4.04
- Veda	4 Kmetijske vede
- Področje	4.04 Kmetijska biotehnologija

3. Sofinancerji²

	Sofinancerji		
1.	Naziv	Ministrstvo za kmetijstvo in okolje Republike Slovenije	
	Naslov	Dunajska 22, 1000 Ljubljana	

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

4. Povzetek projekta³

SLO

V okviru projektnega dela smo proučevali vpliv biofumigacije na nižanje infekcijskega potenciala talnih gliv *Fusarium solani*, *Verticillium dahliae* in *V. albo-atrum*, bakterije *Erwinia carotovora* ter vpliva na ogorčice (*Meloidogyne hapla*, *Xyphinema rivesi*). Dvoletni poljski in lončni poskusi so pokazali, da so za zatiranje glive *F. solani* primernejše križnice, posebno rjava gorjušica, medtem ko so sirki in sudanska trava pokazali boljše rezultate pri zatiranju gliv iz rodu *Verticillium*. Učinkovost biofumigacije na bakterijo *E. carotovora* nismo zasledili. Vpliv na ogorčice smo določali na nivoju križnic, pri čemer smo delovanje biofumigacije zaznali le v okviru lončnega poskusa. Poleg učinkovitosti smo v okviru projekta vrednotili rastne parametre rastlin, vnos biomase v tla, določali vsebnost glukozinolatov in cianida v rastlinah, sproščanje hlapnih toksičnih substanc v tleh in določali vpliv podora na mikrobiološke in osnovne lastnosti tal. Rezultati poskusov so pokazali, da je biofumigacija lahko alternativna tehnologija kemičnem zatiranju določenih talnih patogenov, vendar se enkratna aplikacija biofumigacije po učinkovitosti ne more primerjati s kemičnimi fumiganti. Glede na dosežene učinkovitosti je potrebno biofumigacijo v pridelavo vpeljati kot stalen ukrep, ki se lahko izvaja kot vmesni posevek (trajni nasadi) ali pa kot posevek pred in ob koncu gojenja določenih rastlin.

ANG

Abstract

The project was focused to study biofumigation efficacy to suppress infection potential of soil fungi *Fusarium solani*, *Verticillium dahliae* and *V. albo-atrum*, bacteria *Erwinia carotovora* and nematodes (*Meloidogyne hapla*, *Xyphinema rivesi*). Two years field and pot trials have shown that brown and white mustards have negative effect to *F. solani*, whereas *Verticillium* fungi have been better suppressed by using Sorghum plants. The biofumigation effect to *E. carotovora* was not detected and in the case of nematodes the biofumigation suppression has been recognized only on the level of pot trials. Beside efficacy the project program have been focused to the assessment of plant growing parameters, plant biomass, glucosinolate and cyanide plant potentials, dynamic of toxic volatiles in the soil and biofumigation influence on general soil microorganisms population. The analysis and trials shown that biofumigation could be alternative technology to the chemical fumigation; however one biofumigation treatment cannot reach efficacy level of chemical fungicides. Therefore biofumigation should be implemented to the plant production as constant treatment which could be included in the form of intercropping or as part of crop rotation before and after specific plant production.

5. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu⁴

Talni škodljivi organizmi spadajo med najpomembnejše omejujoče dejavnike rastlinske proizvodnje, saj intenzivna pridelava v poljedelstvu in vrtnarstvu povzroča naraščanje njihovega infekcijskega potenciala in prerazmnožitve. Kot odgovor na prepovedi večine kemičnih fumigantov in potreb pridelovalcev je v zadnjem obdobju v svetu prišlo do razvoja alternativnih tehnologij, med katerimi se zaradi učinkovitosti in odsotnosti nezaželenih stranskih učinkov najbolj uveljavlja in razvija biofumigacija. Tehnologija temelji na vnosu rastlin iz družine križnic (*Brassicaceae*) ter rastlin iz rodu *Sorghum* v tla, pri čemer ob razgradnji ostankov prihaja do sproščanja patogenom toksičnih substanc. V prvi fazi projekta smo izdelali pregleden seznam dostopnosti in uporabe biofumigantnih rastlin ter produktov v svetu. Večina biofumigantnih postopkov temelji na uporabi različnih sort rjave gorjušice (*Brassica juncea*) in bele gorjušice (*Sinapis alba*), ki

vsebujejo visoko vsebnost glukozinulatov in zagotavljajo visok vnos zelen mase v tla. Uporaba rastlin iz rodu *Sorghum* se za namene biofumigacije komercialno ne trži v obliki posebnih biofumigantnih sort, ampak lahko podatke o tem zasledimo le na nivoju raziskovalnih in strokovnih objav.

Spremljanje rastnih dejavnikov, ki smo jih opravili v okviru 2 dvoletnih poljskih poskusov so pokazali, da sorte rjave in bele gorjušice preidejo v fazo polnega cvetenja v 2 mesecih od setve in ob pravilni oskrbi dosežejo več kot 60 ton zelene mase/ha, kar pomeni približno 10 ton suhe snovi/ha. V primeru slabših pogojev kot je npr. suša in toplotni udari se biomasa občutno zmanjša (70-80%), kar kaže na občutljivost teh rastlin na tovrstne razmere. V primeru sirkov in sudanske trave rastline v času 2 mesecev dosežejo primerljivo biomaso kot križnice, vendar ob možnosti podaljšanja rastne dobe za 1-2 tedna lahko močno pridobimo na biomasi in dosežemo vrednosti 20-30 ton suhe snovi/ha, kar v primeru križnic ni mogoče. V primeru neugodnih pogojev sirki in sudanske trave prav tako zgubljajo na biomasi (30-50%), vendar kljub temu ne kažejo tako visoke občutljivosti kot križnice in lahko dosežejo vrednosti 5-10 ton suhe snovi/ha.

Primerjava učinkovitosti križnic, rastlin iz rodu *Sorghum* in standardnih obravnavanj na poskusnem polju IHPS Žalec, je pokazala negativen vpliv večine sirkov, sudanske trave in rjave gorjušice sorta Calliente 199 na glivo *Verticillium dahliae* v obsegu med 40-60%. Pripravek Biofence in gnojilo Urea sta pokazala variabilen učinek med poskusi, pri čemer smo izrazit negativen učinek (40-50%) zaznali le na nivoju lončnega poskusa. V primeru uporabe kemičnega pripravka Basamid Granulat smo v vseh poskusih dosegli najvišje učinkovitosti (80-100%). Rezultati tako kažejo na trend uporabe sirkov in sudanske trave za zatiranje te glive, vendar v več-ih zaporednih postopkih, da se lahko približamo učinkovitosti 1-kratne uporabe kemičnih fumigantov.

V primeru glive *Verticillium albo-atrum* smo na poskusnem polju Gomilsko proučevali vpliv biofumigacije na nivoju sirkov/sudanske trave in oljne redkve. Analize so pokazale konstantno in dobro delovanje večine sirkov, ne glede na vsebnost cianida v tkivu. Padec infekcijskega potenciala se je gibal med 30-70%. Slabše delovanje smo zaznali v primeru zaoravanja koruze in sončnic. Na nivoju lončnega poskusa smo zaznali dobro delovanje gnojila Urea, medtem ko je kemični pripravek Basudin Granulat po pričakovanjih dosegel najvišje učinkovitosti (90-100%). Podobno kot pri *V. dahliae* lahko zaključimo, da je smiselno nadaljevati delo v smeri sirkov s pričakovanjem nižanja infekcijskega potenciala z več zaporednimi postopki, ki se lahko vpeljujejo v kolobar (strniščna setev) ali pa kot vmesni posevki.

Analize vpliva obravnavanj na glivo *Fusarium solani* so v primeru poskusa na IHPS Žalec pokazale zelo variabilne rezultate. V letu 2011 smo negativni učinek v okviru poljskega in lončnega poskusa zaznali le v primeru rjave gorjušice Calliente 61 in pripravka Biofence. Ostala biofumigantna obravnavanja so pokazala dobro delovanje le na nivoju lončnega poskusa ali pa je prišlo do izključevanja rezultatov na nivoju poljskega in lončnega poskusa. Ponovljen poljski poskus v letu 2012 je izrazil negativen vpliv vseh biofumigantnih obravnavanj na glivo *F. solani*, med katerimi smo ponovno najboljše rezultate dosegli v primeru rjave gorjušice Calliente 61 in Calliente 119, ter sudanske trave. Rezultati poskusa na Gomilskem so pokazali vpliv sirkov na nižanje infekcijskega potenciala *F. solani* in slabo ali celo stimulatивно delovanje v primeru koruze in sončnic. Kemično zatiranje se je v vseh primerih izkazalo za najbolj učinkovito in neprimerljivo boljše od biofumigacije.

Proučevanja vpliva biofumigacije na bakterijo *Erwinia carotovora* so pokazala slabo delovanje večine obravnavanj. Blag negativni učinek smo zaznali le pri križnicah in pripravku Biofence, ki pa glede na obseg nima bistvenega pomena. Na osnovi teh rezultatov lahko zaključimo, da je za zatiranje te bakterije potrebno izvesti kemično

tretiranje ali pa izvesti večletno kolobarjenje z negostiteljskimi rastlinami. Zeleni podor lahko pripomore k krajšanju kolobarja, vendar je potrebno opraviti še več poskusov z različnimi rastlinami, da ne spodbudimo naraščanja populacije. Poskuse na tem področju je smiselno nadaljevati še v smeri »biološke talne disinfestacije (BSD)«, solarizacije in biotičnega zatiranja.

Vpliv biofumigacije na ogorčice smo v prvi fazi vrednotili na ogorčici *Meloidogyne hapla*, vendar smo ob izkopu sond ugotovili nepravilno izbiro materiala sond, zato poskusa ni bilo možno ovrednoti. Poskus smo nadaljevali v letu 2012 z novimi optimiziranimi sondami in ogorčico *Xyphinema rivesi*, pri čemur smo se osredotočili na biofumigacijo na osnovi glukozinulatov. V lončnih poskusih smo ugotovili 100 odstotno učinkovitost smrtnosti ogorčic pri obravnavanju Basamid Granulat in vpliv biofumigacije na populacijo ogorčic pri obravnavanju Biofence – peleti (približno 90 odstotna smrtnost) ter beli gorjušici (približno 80 odstotna smrtnost). Največje preživetje ogorčic je bilo v obravnavanju Urea, medtem ko nismo zaznali statističnih razlik med drugimi obravnavanji. V primeru poljskega poskusa vpliva biofumigacije na ogorčice vrste *X. rivesi* nismo ugotovili.

Poskusi v rastlinjaku so v našem primeru pokazali večjo primernost uporabe biofumigantnih peletov kot setev rastlin, saj so le te lahko občutljive na morebitna neprimerna tla ali ostanke kemičnih sredstev. Prav tako je v primeru rastlinjakov pomembna hitrost izvedbe posameznih postopkov, ki naj bi bili po času trajanja primerljivi kemičnem zatiranju. Uporaba biofumigantnega pripravka Biofence je ob prekrivanju površine s folijo v našem poskusu pokazala učinkovitost nižanja potenciala glive *V. dahliae* in *F. solani*, vendar le v obsegu do 50%, kar je neprimerljivo s kemičnim pripravkom Basamid granulat (100% učinkovitost). Učinkov peletov Biofence na bakterijo *E. carotovora* nismo zaznali. V primeru uporabe gnojila Urea skupaj s prekrivanjem s folijo smo ugotovili negativen učinek na *V. dahliae*, vendar ponovno do 50%. Ostala obravnavanja niso pokazala negativnega vpliva na omenjene organizme. Rezultati tako kažejo na uporabnost biofumigantnih peletov Biofence v rastlinjaki za zatiranje gliv iz rodu *Fusarium* in *Verticillium*, vendar lahko značilne učinke pričakujemo ob večkratni in stalni uporabi tega pripravka.

Vnos biomase v tla in sami agrotehnični postopki predstavljajo velik poseg v talno mikrofloro. Ustrezno mikrobiološko ravnovesje je za optimalen razvoj rastlin izrednega pomena, zato smo v letu 2011 opravili meritve dinamike bakterijske in splošne populacije gliv v tleh v času 0, 7 in 14 dni po aktivni fazi posameznih obravnavanj. Analize so pokazale izrazit dvig bakterijske populacije v točki 7 dni (post BI) pri vseh obravnavanjih zaoravanja rastlinske mase v tla in pri aplikaciji organskega biofumigantnega gnojila Biofence. V primeru uporabe kemičnega pripravka Basamid Granulat se je populacija bakterij znižala, kar kaže na splošno biocidno delovanje tega pripravka. Nizek odziv smo zaznali tudi na pri aplikaciji gnojila Urea in kontrolnem obravnavanju, kjer je blag pozitiven dvig populacije nastal najverjetneje zaradi učinkov obdelave tal. V točki vzorčenja 14 dni (post BI) smo ugotovili, značilen padec bakterijske populacije nazaj v bližino začetnih vrednosti pri vseh biofumigantnih obravnavanjih. V primeru kemičnega pripravka Basamid Granulat, pa se je populacija bakterij obnovila in dvignila na nivo začetnega stanja. V primeru gliv smo značilen dvig populacije gliv zaznali šele v točki 14 dni (post BI), kjer je prišlo do visokega dviga pri večini biofumigantnih obravnavanj. Prav tako smo dvig zaznali v primeru uporabe gnojila Urea, ki je z dodatnim sproščanjem dušika pospešil razvoj gliv.

Analize biofumigantnega potenciala posameznih rastlin v času vnosa v tla so pokazale primerljivo skupno vsebnost glukozinulatov med sortami rjave gorjušice in bele gorjušice. Bistvene razlike so se pokazale na profilu in vsebnosti v posameznem tkivu. V primeru rjavih gorjušic je prevladoval glukozinulat sinigrin in sicer večinoma na nadzemnem delu

rastlin, medtem ko se pri beli gorjušici glukozinulati večinoma nahajajo v koreninah s prevladovanjem glukosinalbina. Zanimivo je, da sinigrina pri beli gorjušici nismo zasledili. Analize peletov Biofence, ki so narejeni iz mletih semen etiopijske gorjušice, so po pričakovanih pokazale približno 20-krat višje koncentracije glukozinulatov, kot pri rastlinah, pri čemer sta prevladujoča glukozinulata sinigrin in glukosinalbin. Z upoštevanjem dosežene teže suhe snovi rastlin (ha) in vsebnosti skupnih glukozinulatov v času zaoravanja rastlin smo ugotovili, da imajo peleti Biofence 3-4 krat višji biofumigantni potencial kot rastline. Med rastlinami smo primerljive biofumigantne potenciale ugotovili med sortama rjave gorjušice Calliente 119 in 99 ter belo gorjušico. Pri sorti Calliente 61 smo ugotovili nižje vrednosti bifumigantnega potenciala. Meritve vsebnosti cianida v sirkih in sudanski travi so razdelili rastline v dve skupini. Visoko vsebnost smo potrdili v primeru sirkov NK 1990, Sucrosorgho 506, Primsilo in Jimmgo. Vse ostale sorte sirkov in sudanske trave so imele najmanj 50% nižje vrednosti. Z upoštevanjem dosežene suhe snovi smo tako najvišje fumigantne potenciale potrdili v skupini sirkov z visokimi vrednostmi cianida.

Pri analizi fumigantov v tleh smo v našem poskusu izotiocianat zaznavali do 48 ur po zaoravanju rastlinske mase, medtem ko smo vodikov cianid zaznali le v točki neposredno po zaoravanju. To potrjuje predhodne raziskave, da se najpomembnejši fumigantni del odvija v prvi fazi, ki traja dni 3-5 dni. Prav tako je znano, da mulčenje rastlin povzroči takojšnje sproščanje izotiocianatov ter vodikovega cianida, zato je pomembno, da ostanke rastlin nemudoma zadelamo v tla. V nasprotnem primeru prihaja do velikih izgub omenjenih plinov in slabšega izkoristka fumigantnega potenciala rastlin.

Poskusi v okviru projekta so pokazali, da je biofumigacija lahko alternativna tehnologija kemičnem zatiranju določenih talnih patogenov, vendar se enkratna aplikacija biofumigacije po učinkovitosti ne more primerjati s kemičnimi fumiganti. Prav tako koncentracije naravnih fumigantov, ki nastajajo ob razgradnji trenutno dostopnih biofumigantnih rastlin in produktov ne dosegajo vrednosti kemičnih fumigantov. Glede na dosežene učinkovitosti je potrebno biofumigacijo v pridelavo vpeljati kot stalen ukrep, ki se lahko izvaja kot vmesni posevek (trajni nasadi) ali pa kot posevek pred in ob koncu gojenja določenih rastlin.

*Celotno vsebinsko poročilo je predstavljeno v Prilogi 1.

6. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem in zastavljenih raziskovalnih ciljev⁵

Izvajanje projekta je potekalo v skladu z zastavljenim programom dela in cilji. V obdobju prvega mejnika smo izdelali pregleden seznam najpogostejše uporabljenih biofumigantnih rastlin in produktov. Vzpostavili smo stike s semenarskimi hišami in pridobili ključen material za izvedbo poskusov. Jedro raziskave sta predstavljala dva poljska poskusa od katerih je eden temeljil na primerjavi biofumigantnih križnic in sirkov/sudanske trave, drugi pa izključno na sirkih. V okviru poskusov smo vrednotili učinkovitost biofumigacije na modelnih organizmih in hkrati ocenili rastne potenciale posameznih rastlin. Poljska poskusa smo vzporedno izvajali tudi na nivoju lončnih poskusov. V prvem letu raziskave smo opravili tudi meritve vpliva postopkov na mikrobiloško floro in dinamiko hlapnih snovi v tleh. Razvili in optimizirali smo sonde in selektivna gojišča za modelne organizme s katerimi smo merili učinkovitost biofumigantnih postopkov. Prav tako smo vpeljali metodologijo vrednotenja vpliva biofumigacije na talno mikrofloro (glive in bakterije) in metodologijo določanja glukozinulatov in cianida v rastlinah in tleh. V drugem letu izvedbe smo v skladu s programom ponovili oba poljska poskusa na nivoju učinkovitosti ter izvedli še poskus v rastlinjaku. Na osnovi opravljenega dela ocenjujemo, da je bil projekt v celoti realiziran in da smo pridobili ključne informacije za vpeljavo te alternativne tehnologije v slovensko pridelavo rastlin.

7.Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁶

V programu in izvedbi projekta nismo izvedli sprememb dela, ki bi bistveno vplivale na potek in izvedbo dela.

8.Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁷

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	563596	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	In situ ocena kakovosti populacije navadnega rička
		ANG	In situ quality evaluation of Camelina sativa landrace
	Opis	SLO	V študiji se je proučavala alternativna oljnica navadni riček (Camelina sativa) iz družine križnic, ki se v Sloveniji tradicionalno goji na Koroškem. Določala se je vsebnost olj, glukozinolatov, maščobnih kislin, peroksidov, jodina in tokoferola na vzorcih iz 10 različnih lokacij v treh zaporednih sezonah.
		ANG	Camelina sativa is an alternative, low input oilseed crop with oil of high nutritional value. In Slovenia, C. sativa landrace has been grown by local farmers in the Koroska region since the middle of the 20th century. In our study, we determined oil and glucosinolate content (GLS) of camelina seed and free fatty acid (FFA), peroxide value (PV), iodine value (IV), tocopherol contents (T), and fatty acid profile of camelina oil from ten locations over three consecutive growing seasons.
	Objavljeno v	Wiley-VCH; European journal of lipid science and technology; 2012; Vol. 114, issue 3; str. 343-351; Impact Factor: 1.733;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.379; WoS: JY, SA; Avtorji / Authors: Hrastar Robert, Abramovič Helena, Košir Iztok Jože	
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	7008121	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Preliminarne rezultati študije variabilnosti in mehanično induciranih hlapnih komponent korenin različnih kultivarjev koruze
		ANG	Preliminary results of variability in mechanical-induced volatile root-emissions of different maize cultivars
	Opis	SLO	V študiji se je proučevala specifičnost hlapnih komponent korenin različnih linij in hibridov koruze iz Evrope in Severne Amerike. Analiza linaola, a-kariofilena in b-kariofilena je pokazala razlike med genotipi iz the dveh geografskih območij in razlike v povezavi z pretretmaji koreninske sistema v povezavi z mehanskimi poškodbami.
		ANG	The current study was conducted to obtain more information on the specificity and variation of the volatile compounds, which are released from the root system of different lines and hybrids of Zea mays plants. European (12 genotypes) and North American (5 genotypes) genetic material was included (15 maize hybrids and 2 maize inbreds). The results of our study have shown that roots of European and American maize genotypes secrete different relative amounts of linalool, a-caryophyllene and b-caryophyllene, which depend on genotype and on the pretreatment of the roots (various mechanical damages).
	Objavljeno v	Istituto sperimentale per la cerealicoltura; Maydica; 2011; Vol. 56, No. 4; str. 343-350; Impact Factor: 0.395;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.232; WoS: AM, DE; Avtorji / Authors: Laznik Žiga, Košir Iztok Jože, Rozman Ludvik, Kač Milica, Trdan Stanislav	
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek	

3.	COBISS ID	567180	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Preizkušanje dveh metod testiranja odpornosti sončnic na glivo <i>Alternariaster helianthi</i>
		ANG	Comparison of two testing assays to evaluate sunflower resistance against <i>Alternariaster helianthi</i>
	Opis	SLO	Ocenjevanje odpornosti sort in ostalega genetskega materiala na polju je močno odvisno od vremenskih pogojev, začetnega bolezenskega potenciala in različnega dozorevanja sort, kar velikokrat prispeva k dolgotrajnim postopkom pridobivanja realnih ocen in različnim vrednotenjem rezultatov. Iz omenjenega raziskovalci stalno razvijajo nove postopke vrednotenja, ki ponujajo hitrejša vrednotenja odpornosti v čim bolj uniformnih pogojih. Rezultati testiranj so ključnega pomena za izvajanje sortne politike posameznih regij ter žlahtniteljske programe, ki preko selekcij vzgajajo nove odporne sorte in hibride sončnic. V prispevku je predstavljena vpekjava in vrednotenje dveh metod umetnega okuževanja sončnic z glivo <i>Alternariaster helianthi</i> v kontroliranih pogojih rastne komore z namenom razvoja rutinskega postopka vrednotenja odpornosti.
		ANG	The evaluation of disease resistance of varieties and other genetic material under field conditions is influenced by seasonal and environment conditions, variations in disease potential and differences in maturity between genotypes. Such assessment demand longer procedures to obtain accurate evaluation of disease resistance, therefore researchers continue with development of new testing methods which offer faster and reliable testing in uniform conditions. Disease resistance data presents important information for development of variety policy in particular region and for breeding programs which use selections for breeding of new resistant plant material. The manuscript presents implementation and comparison of two artificial inoculation methods of sunflowers by <i>Alternariaster helianthi</i> in controlled conditions of growing chamber.
	Objavljeno v	Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo; Hmeljarski bilten; 2011; 18; str. 56-64; Avtorji / Authors: Radišek Sebastjan, Ferk Silvija	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	

9. Najpomembnejši družbeno-ekonomsko relevantni rezultati projektne skupine⁸

	Družbenoekonomsko relevantni dosežki		
1.	COBISS ID	558988	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Razvoj hitre in planta molekularne metode za detekcijo hmeljnih patotipov glive <i>Verticillium albo-atrum</i> in strategije za preprečevanje širjenja.
		ANG	Development of a rapid molecular in-plant test for the detection of <i>Verticillium</i> pathotypes in hops and strategies for prevention of wilt
	Opis	SLO	V okviru mednarodnega simpozija je bila predstavljen razvoj in optimizacija hitre diagnostične metode za in planta detekcijo različnih patotipov povzročiteljev Verticilijске uvelosti hmelja
		ANG	In the frame of international symposium was presented development and optimisation of rapid diagnostics protocol for in planta detection of different <i>Verticillium</i> pathotypes on hops.
	Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci	
	Objavljeno v	Scientific Commission, I.H.G.C.; Proceedings of the Scientific Commission [of the] CICH - IHB - IHGC, International Hop Growers` Convention, Lublin, Poland, 19-23 June 2011; 2011; Str. 99-101; Avtorji / Authors: Drogenig Katja, Zachow C., Berg Gabriele, Radišek Sebastjan, Seigner Elisabeth,	

		Seefelder Stefan
	Tipologija	1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci
2.	COBISS ID	558732 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Študije Verticilijske uvelosti hmelja
		<i>ANG</i> Studies of Verticillium wilt in hops
	Opis	<i>SLO</i> Predstavljena je bila retrospektiva različnih študij Verticilijske uvelosti hmelja v Nemčiji. Največ aktivnosti v zadnjih 5 letih je bilo usmerjenih v identifikacijo novega letalnega patotipa glive V. albo-atrum, razvoj odpornih sort in različnih načinov preprečevanja širjenje te bolezni.
		<i>ANG</i> Presented was retrospective of Verticillium wilt studies in Germany. The majority of activities were focused to identification of new lethal pathotype of V. albo-atrum, development of resistant varieties and different measures for prevention disease outbreaks.
	Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v	Scientific Commission, I.H.G.C.; Proceedings of the Scientific Commission [of the] CICH - IHB - IHGC, International Hop Growers` Convention, Lublin, Poland, 19-23 June 2011; 2011; Str. 98; Avtorji / Authors: Seefelder Stefan, Drogenig Katja, Seigner Elisabeth, Niedermeier Erich, Berg Gabriele, Javornik Branka, Radišek Sebastjan
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci

10. Drugi pomembni rezultati projektne skupine²

Dosedanji rezultati projekta in način izvajanja raziskave so bili neposredno predstavljeni zainteresirani javnosti v okviru tehnoloških sestankov hmeljarjev ter preko ogledov poskusnih polj projekta v okviru različnih šolskih in strokovnih ekskurzij.

Na delo projekta (Program III-izdelava sond patogenih organizmov in merjenje infektivnega potenciala) je bilo tudi delno vezano izvajanje diplomske naloge ga. Daše Perko z naslovom: Uporaba molekularnih markerjev za detekcijo povzročiteljev verticilijske uvelosti hmelja (*Verticillium albo-atrum* in *V. dahliae*) v tleh (Biotehniška fakulteta, Študij biotehnologije, Diplomski dela, 62; COBISS.SI-ID 6804857, ki je bila uspešno končana z zagovorom dne 09.09. 2011 v Ljubljani.

Program V (Določanje glikozidov v rastlinah) projekta pa je bil preko razvoja metod določanja glukozinolatov v tleh povezan z izvajanjem doktorskega dela g. Roberta Hrastarja z naslovom: Karakterizacija, deodorizacija in ugotavljanje pristnosti ričkovega olja (*Camelina sativa* (L.) Crantz), Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti], 2011. XIII, 78; COBISS.SI-ID 3955576.

11. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine¹⁰

11.1. Pomen za razvoj znanosti¹¹

SLO

V projektu smo proučevali biofumigacijo, kot alternativno tehnologijo kemičnem zatiranju talnih škodljivih organizmov. Raziskave smo izvajali na nivoju izbranih biofumigantnih rastlin iz rodov *Brassica* in *Sorghum*, ki ob razgradnji v tleh tvorijo toksične izotiocianate in vodikov cianid. Vpliv vnosa rastlin v tla smo merili na spremembah infektivnega potenciala več taksonomsko različnih modelnih organizmov, kar nam je omogočilo širši vpogled v ocenjevanje učinkov posameznih postopkov. Pomen za znanost predstavljajo tudi meritve dinamike celokupne populacije gliv in bakterij v tleh v različnih časovnih intervalih po vnašanju rastlinske mase v tla. Hkrati smo vse biofumigantne postopke podprli z analizami določanje glukozinolatov in cianida v rastlinah ter sproščanja izotiocianatov in vodikovega cianida v tleh, s čimer smo proučili posamezne faze biofumigacije in prispevali k razumevanju dogodkov tleh na nivoju

različnih interakcij.

ANG

In the project we studied biofumigation as alternative technology to chemical fumigation and suppression of soil borne pathogens. The research was focused to the study of representative biofumigation plants from genus Brassica and Sorghum which during tissue degradation released toxic volatile substances like are isotiocyanates and hydrogen cyanide. The influence was analyzed on the changes of infection potential of several taxonomic different pathogens, what manages us wider insight to the observations of different biofumigation procedures. The importance for the science presents also dynamic measurements of general fungal and bacterial population in different time intervals after plant soil incorporation. All biofumigation treatments were supported by analysis of glucosinolates and cyanide contents in plans as well isotiocyanates and hydrogen cyanide release dynamic in the soil. The results of our projects contribute to the studies of different phases of biofumigation and to understanding of different interaction events in the soil.

11.2.Pomen za razvoj Slovenije¹²

SLO

Rezultati projekta so omogočili oceno in proučitev vpeljave biofumigacije, kot nove tehnologije pri zatiranju talnih rastlinskih patogenov. Opravljeni so bili prvi sistematični poskusi z reprezentativnimi biofumigantnimi rastlinami, ki smo jih analizirali na nivoju patogenov s katerimi se slovenski pridelovalci pogosto srečujejo. Ovrednotili so se rastni parametri rastlin in biofumigatni potencial različnih sort v naših pridelovalnih pogojih, kar bo prispevalo boljši presoji pri izbiri rastlin in pravilnem času vnosa rastlinske mase v tla. Vpeljali in optimizirali smo več mikrobioloških analitskih metod vrednotenja učinkovitosti biofumigacije na posamezne patogene, kar bo v prihodnje omogočilo lažje, hitrejše in zanesljivejše določanje uspešnosti pri tovrstnih poskusih. Prav tako so bile vpeljane analitske metode za določanje glukozinulatov in cianida v rastlinah ter sproščanja izotiocianatov in vodikovega cianida v tleh. Rezultati projekta bodo nedvoumno vplivali na hitrejši razvoj in vpeljavo biofumigacije v kolobar predvsem v vrtnarstvu in poljedelstvu ter pri pripravi tal trajnih nasadov.

ANG

The project results established assessment and study of biofumigation as a new agricultural technology for suppression of soil borne organisms. The first systematic trials using representative biofumigation plants have been made, which managed research on the level of most frequently found soil pathogens in Slovenia. Evaluation of plant growth parameters and biofumigation potential of different varieties in domestic conditions have been made. Development and optimisation of new microbiological methods will allow in the future easier, faster and more reliable assessments. Implemented were also new chemical analytical methods for determination of glucosinolates and cyanide contents in plants, and methods for detection of isotiocyanates and hydrogen cyanide in soil. Project results will undoubtedly have great impact to future development and faster implementation of biofumigation into the crop rotation of vegetable production as well in soil preparation for establishment of perennial plant fields.

12.Vpetost raziskovalnih rezultatov projektne skupine.

12.1.Vpetost raziskave v domače okolje

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

- ☒ v domačih znanstvenih krogih
- ☒ pri domačih uporabnikih

Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?¹³

Interes po rezultatih se izraža pri domačih pridelovalcih in semenarskih hišah ter tujih znanstvenih inštitucijah.

12.2.Vpetost raziskave v tuje okolje

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

- ☒ v mednarodnih znanstvenih krogih
- ☒ pri mednarodnih uporabnikih

Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujini raziskovalnimi inštitucijami:¹⁴

- Horticulture Research International, Department of Hop Research, Wye College, Wye Ashford, Kent, England
- Hop Research Institute co., Žatec, Czech Republic
- Bayer. Landesanstalt fuer Landwirtschaft, Institut fuer Pflanzenbau und Pflanzenzuechtung, Arbeitsbereich Hopfen, Hüll, Freising, Deutschland
- Oregon State University, Botany and Plant Pathology, Corvallis, Oregon, USA
- Institute of Soil Science and Plant Cultivation, Pulawy, Poland

Kateri so rezultati tovrstnega sodelovanja:¹⁵

Rezultati sodelovanja s tujimi inštitucijami temeljijo na izmenjavi materiala in izkušenj, predvsem na področju varstva rastlin, biotehnologije in agronomije ter povezovanju za izvedbo skupnih prijav na različne projekte.

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja in obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino letnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta
- bomo sofinancerjem istočasno z zaključnim poročilom predložili tudi študijo ali elaborat, skladno z zahtevami sofinancerjev

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo
Slovenije

Sebastjan Radišek

ŽIG

Kraj in datum: Žalec, 9.10.2012 9.10.2012

Oznaka prijave: ARRS-CRP-ZP-2012-05/21

¹ Zaradi spremembe klasifikacije je potrebno v poročilu opredeliti raziskovalno področje po novi klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevajalna tabela med raziskovalnimi področji po klasifikaciji ARRS ter po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science) s kategorijami WOS (Web of Science) kot podpodročji je dostopna na spletni strani agencije (<http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/preslik-vpp-fos-wos.asp>). [Nazaj](#)

² Podpisano izjavo sofinancerja/sofinancerjev, s katero potrjuje/jo, da delo na projektu potekalo skladno s programom, skupaj z vsebinsko obrazložitvijo o potencialnih učinkih rezultatov projekta obvezno priložite obrazcu kot priponko (v skeniranem PDF formatu) in jo v primeru, da poročilo ni polno digitalno podpisano, pošljite po pošti na Javno agencijo za raziskovalno dejavnost RS. [Nazaj](#)

³ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

Zaključno poročilo o rezultatih ciljnega raziskovalnega projekta - 2012

⁴ Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁵ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11) [Nazaj](#)

⁶ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta (obrazložitev). V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁷ Znanstveni in družbeno-ekonomski dosežki v programu in projektu so lahko enaki, saj se projektna vsebina praviloma nanaša na širšo problematiko raziskovalnega programa, zato pričakujemo, da bo večina izjemnih dosežkov raziskovalnih programov dokumentirana tudi med izjemnimi dosežki različnih raziskovalnih projektov.

Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)

⁸ Znanstveni in družbeno-ekonomski dosežki v programu in projektu so lahko enaki, saj se projektna vsebina praviloma nanaša na širšo problematiko raziskovalnega programa, zato pričakujemo, da bo večina izjemnih dosežkov raziskovalnih programov dokumentirana tudi med izjemnimi dosežki različnih raziskovalnih projektov.

Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.

Družbenoekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen, kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno ekonomsko relevantnega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. v preteklem letu vodja meni, da je izjemen dosežek to, da sta se dva mlajša sodelavca zaposlila v gospodarstvu na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovila svoje podjetje, ki je rezultat prejšnjega dela ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁹ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 7 in 8 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov vključno s presledki. [Nazaj](#)

¹⁰ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

¹¹ Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

¹² Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

¹³ Največ 500 znakov vključno s presledki (velikosti pisave 11) [Nazaj](#)

¹⁴ Največ 500 znakov vključno s presledki (velikosti pisave 11) [Nazaj](#)

¹⁵ Največ 1.000 znakov vključno s presledki (velikosti pisave 11) [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-CRP-ZP/2012-05 v1.00c

5A-C8-8C-0F-AA-2C-63-59-75-B7-59-77-99-94-40-11-7D-C4-30-7F

Priloga 1: Vsebinsko poročilo o realizaciji projekta

1 UVOD

1.1 Izhodišča in opis problematike

Talni škodljivi organizmi spadajo med najpomembnejše omejujoče dejavnike rastlinske proizvodnje, saj intenzivna pridelava v poljedelstvu in vrtnarstvu povzroča naraščanje njihovega infekcijskega potenciala in prerezmnovitve. Največji delež škod na rastlinah, ki se izražajo v obliki gnitja koreninskega sistema, uvelosti, padavic in trohnob, povzročajo talne glive iz rodov kot so *Fusarium*, *Verticillium*, *Sclerotinia*, *Rhizoctonia*, *Thielaviopsis* in oomicete iz rodov *Pythium* ter *Phytophthora*. Pogoste so tudi okužbe s talnimi patogenimi bakterijami kot so *Erwinia carotovora* in vrste iz rodov *Pseudomonas*, *Xanthomonas* in *Clavibacter*. Med zelo pomembne talne škodljive organizme spadajo tudi fitofagne ogorčice, ki poleg neposrednega parazitizma rastlin ustvarjajo sinergistične interakcije s patogenimi talnimi glivami in tako pospešujejo razvoj bolezenskih stanj. V Sloveniji po obsegu škode izstopa predvsem pridelava poljščin ter vrtnin v rastlinjakih in na prostem, kjer v obdobju zadnjih 10 let opazamo povečan obseg okužb paradižnika, paprike, jajčevca, solate in krompirja z glivami *Rhizoctonia solani*, *F. oxysporum*, *F. solani* in *V. dahliae* (IHPS, 2000-2011).

Pridelovalci vrtnin dobro poznajo tudi bakterijske bolezni kot je črna žilavka kapustnic (*Xanthomonas campestris*), bakterijska uvelost paradižnika (*Clavibacter michiganensis* subs. *michiganensis*) in okužbe, ki jih povzroča *E. carotovora* na vrtninah. Velika gospodarska škoda je opazna v hmeljarstvu, kjer patotip PV1 talne glive *V. albo-atrum* povzroča hitro odmiranje rastlin in je v 10 letih na območju Savinjske doline prizadel več kot 180 ha hmeljišč (Radišek s sod., 2006). Pri pridelavi jagod se pridelovalci redno srečujejo s pojavom rdeče koreninske gnilobe (*Phytophthora fragariae* var. *fragariae*) in jagodne črne koreninske gnilobe (*R. solani*). Tudi v sadjarstvu in vinogradništvu prihaja do pogostih odmiranj dreves in trsov, ki jih omenjamo kot »kapi« ali apopleksije in so posledica okužb z različnimi talnimi glivami. Med ogorčicami v Sloveniji največ škode povzročajo vrste iz rodov *Globodera*, *Pratylenchus*, *Meloidogyne* in *Heterodera* (Urek in Hržič, 1998).

Poleg neposredne škodljivosti omenjenih organizmov, glavni problem predstavlja njihovo dolgotrajno ohranjanje v tleh v obliki trajnih organov, ki jim omogočajo večletno (4-6 let) preživetje v odsotnosti gostiteljskih rastlin. Prav tako mnogi spadajo med polifage, kar še bolj otežuje in omejuje pridelavo na okuženih površinah. Tako strategija nadaljevanja proizvodnje poleg odstranjevanja obolelih rastlin temelji predvsem na uničevanju in nižanju talnega infekcijskega potenciala. V ta namen se je v svetu zelo razširilo kemično razkuževanje tal s fumiganti oz. fitofarmacevtskimi pripravki na osnovi aktivnih snovi (a.s.) metilbromid, klorpikrin, dazomet, in metam-natrij, ki omogočajo hitro in učinkovito uničenje infekcijskega potenciala večine talnih škodljivih organizmov. Ker gre za zelo strupene in okolju obremenjujoče kemikalije je v zadnjem desetletju v mnogih deželah prišlo do prepovedi uporabe večine od teh. Tako imajo npr. pridelovalci v Sloveniji na voljo le še pripravek na osnovi a.s. dazomet, katerega uporaba je dodatno

omejena s prepovedjo uporabe v integrirani in ekološki pridelavi. Kot odgovor na prepovedi večine fumigantov in potreb pridelovalcev je v svetu prišlo do pospešenih raziskav in razvoja alternativnih metod, med katerimi se zaradi učinkovitosti in odsotnosti nezaželenih stranskih učinkov najbolj uveljavlja biofumigacija.

1.2 Biofumigacija

Znano je, da uporaba podorin v poljedelstvu ugodno vpliva na povečanje mikrobiološke aktivnosti tal, predvsem v smislu naselitve mikofagnih organizmov, streptomicet in ostalih aktinomicet, ki preko parazitizma in antagonizma, negativno vplivajo na povzročitelje bolezni (Wiggins in Kinkel, 2005). Nadgradnjo na tem področju predstavlja biofumigacija, ki temelji na vnašanju ostankov križnic z visoko vsebnostjo glukozinulatov ter cianogenih rastlin iz rodu *Sorghum* v tla. Ob razgradnji ostankov omenjenih rastlin namreč prihaja, do sproščanja hlapljivih kemičnih snovi (alelokemikalije), ki negativno vplivajo na talne škodljive organizme, hkrati pa za razliko od kemičnega razkuževanja povečujemo delež organske snovi v tleh ter bogatimo talno mikrofloro.

Pri križnicah kot so npr. *B. napus*, *B. hirta*, *B. nigra* in *B. juncea* imajo glukozinulati sami po sebi omejeno biološko aktivnost, ki pa se močno poveča ob njihovi razgradnji, pri čemer prihaja do tvorbe številnih (več kot 20) alifatskih in aromatičnih izotiocinатов (Brown in Morra, 1997). Prav tako je dobro znan toksični učinek cianogenega glukozida (dhurrin) pri rastlinah iz rodu *Sorghum*, ki ob razpadu tvori toksični plin cianovodik, in povzroča inhibicijo encima citokrom c oksidaze v mitohondrijih (Nielsen in Moller, 1999). Mayton in sod., (1996) so med prvimi z *in vitro* poskusi dokazali antagonističen učinek izotiocinатов iz nekaterih vrst križnic na razvoj talne glive *F. sambucinum*. Rezultati *in vitro* poskusov so se potrdili tudi v primeru poljskih poskusov. Subbarao s sod., (1999) so tako ugotovili primerljivo stopnjo zmanjšanja infekcijskega potenciala glive *V. dahliae* pri vnašanju ostankov brokolija (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.) in uporabo razširjenih biocidov za razkuževanje tal na osnovi kloropikrina in metam-natrija. Podobne rezultate so objavili tudi Blok s sod., (2000), ki so fungistatični učinek vnašanja križnic nadgradili z ustvarjanjem anaerobnih pogojev v tleh. Smolinska (2000), poroča o znatni redukciji klamidospor glive *F. oxysporum* ob zaoravanju *B. juncea* sorte Malopolska. V primeru bifomigacije s sudansko travo Viaene in Abawi (1998) ter Widmer in Abawi (2000) poročajo o zmanjšanju populacije ogorčice *Meloidogyne hapla*. Podobno so Nyczepir in sod., (1996) ugotovili negativen vpliv nekaterih sort sudanske trave na ogorčico *Criconemoides xenoplax*. V literaturi obstajajo tudi poročila poljskih poskusov, ki ne potrjujejo značilnega biocidnega učinka omenjenih rastlin. Kot odgovor na to Njoroge in sod. (2008), razlagajo, da je potrebno za dejanski učinek biofumigacije pravilno definirati tarčne organizme, vrsto in sorto biofungicidnih rastlin, tehnologijo pridelave, ter čas in količino vnosa biomase v tla.

V obdobju zadnjih 5 let so inovativna semenarska podjetja razvila več sort križnic, ki so bile žlahtnjene namensko za uporabo biofumigacije z doseganjem visoke stopnje glukozinulatov in produkcije organske mase (nad 50 t/ha). Hkrati so nekatera podjetja razvila biofumigantne produkte v obliki peletov, moke ali koncentratov, ki omogočajo

hitrejšo izvedbo biofumigacije, kar je močno pospešilo uporabo te tehnologije predvsem v vrtnarstvu. Uporaba biofumigacije je trenutno najbolj razširjena v Angliji, Italiji, Španiji, Avstraliji in ZDA, predvsem pri proizvodnji vrtnin, jagod in krompirja s poudarkom na ekološki pridelavi (Biofumigation 2008; Biofumigation and biopesticides 2011). Obseg površin in število raziskav na tem področju v zadnjem obdobju strmo narašča in spada med najbolj hitro rastoče in proučevane tehnologije na področju kmetijstva. Eden od kazalcev tega je tudi naraščanje števila objav in citatov v bazi »Web of Science«, ki se je v obdobju 1998-2012 povečalo za več kot 10 krat.

1.3 Cilji projekta

V Sloveniji je biofumigacija še razmeroma precej nerazvita in premalo poznana kmetijska praksa, katere vpeljava je glede na perečo problematiko talnih patogenov, omejenost kemičnega razkuževanja in strategijo trajnostnega kmetijstva samoumevna in nujna. V svetu obstaja več seminarских podjetij, ki intenzivno razvijajo biofumigantne rastline v smeri zatiranja specifičnih tarčnih organizmov in prilagajanju ravnim pogojev, s čimer v praksi v določenih primerih dosegajo primerljive rezultate kemičnem zatiranju talnih patogenih organizmov v vrtnarstvu in poljedelstvu. Glavni cilji projekta so bili usmerjeni k določitvi učinkovitosti biofumigantnih rastlin iz rodu *Brassica*, hkrati pa smo se osredotočili tudi na rastline iz rodu *Sorghum*, ki predstavljajo novo še razvijajočo vejo biofumigacije. Pri vrednotenju posameznih biofumigantnih postopkov smo se osredotočili na določanje učinkovitosti nižanja infekcijskega potenciala talnih gliv *Fusarium solani*, *Verticillium dahliae* in *V. albo-atrum*, bakterije *Erwinia carotovora* ter vpliva na ogorčico *Meloidogyne hapla*, ki skupaj predstavljajo nabor patogenov, s katerimi se pridelovalci vrtnin in poljščin v Sloveniji zelo pogosto srečujejo. Poleg učinkovitosti je bil cilj projekta vrednotiti tudi ravnne parametre rastlin, vnos biomase v tla, vsebnost glukozinolatov in cianida v rastlinah, sproščanje izotiocinratov v tleh in določiti vpliv podora na mikrobiološke in osnovne lastnosti tal, s čimer smo zajeli osnovne parametre, ki so potrebni za celovito ovrednotenje posameznih biofumigantnih postopkov. Na osnovi rezultatov projekta smo želeli pridobiti informacije, ki so potrebne za postavitev in nadaljnji razvoj biofumigantnih modelov prilagojenih zatiranju specifičnih talni patogenov na različnih kmetijskih rastlinah. Za doseg ciljev smo program projekta razdelili v več delovnih paketov, ki so metodološko predstavljeni v okviru naslednjega poglavja.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Izdelava seznama biofumigantnih rastlin ter pridobitev semenskega materiala

Z namenom pridobitve pregleda nad dostopnostjo in uporabo biofumigantnih rastlin ter njihovih produktov v svetu smo na osnovi dostopne literature (Web of Science) in spletnih podatkov izdelali seznam, ki vključuje dobavitelje in njihovo ponudbo na področju biofumigacije. K sodelovanju v raziskavi smo povabili vse glavne dobavitelje, ki smo jim predhodno predstavili program raziskav. Na osnovi odziva posameznih podjetij smo nato pridobivali semenski material in biofumigatne produkte, ki smo jih vključili v poskusna testiranja.

2.2 Zasnova poskusnih površin biofumigacije

Poljski in lončni poskusi

Z namenom raziskave biofumigacije smo izvedli zasnovo dveh dvoletnih poljskih poskusov, ki sta zajemala preizkušanje rastlin iz rodu *Brassica* in *Sorghum*. Kot standarde smo na poskusna polja vključili še koruzo, neposejano površino, kemično razkuževanje (dazomet) in razkuževanje z ureo. Prvi poskus (I) smo izvedli na »Poskusnem posestvu IHPS, njiva SN10« v Žalcu, kjer smo določali učinkovitost zatiranja gliv *F. solani* in *V. dahliae*, bakterije *E. carotovora* ter ogorčic *M. hapla* in *Xiphinema rivesi*. Drugi poljski poskus (II) pa je potekal na Gomilskem (Klinca 1), kjer smo se usmerili na določanje učinkovitosti zatiranja gliv *V. albo-atrum* in *F. solani*. Vsa obravnavanja na poskusnih poljih so bila izvedena v 4 ponovitvah v naključni razporeditvi. Velikost parcel na »poskusu I« je bila 3 x 10m (30m²), na »poskusu II« pa 4x4m (16m²). Setev rastlin smo izvedli s poskusno sejalnico Wintersteiger (Tool carier 2700) (Slika 1). Pred setvijo smo na obeh poskusnih poljih opravili osnovno analizo tal na hranila in teksturo tal. Rastline smo do izvedbe mulčenja (1-1,5 meseca) ustrezno gnojili ter varovali pred boleznimi, škodljivci in pleveli. Pred vnosom rastlin v tla smo opravili meritve biomase, ter odvzeli vzorce za analizo vsebnosti glukozinulatov in cianida. Sledil je vnos zmulčenih rastlin in pripravkov v tla ter vnos sond s patogenimi organizmi (1sonda za vsak organizem/parcelo) na globino 20 cm. Ob izvedbi poljskih poskusov smo hkrati izvedli parcelam ekvivalentni lončni poskus v 4L lončkih, katere smo v času mulčenja napolnili z rastlinskim materialom in tlemi iz posamezne parcele v razmerju 50:50 ter vanje položili po eno sondo za vsak organizem. V primeru lončkov, ki so vsebovali kemične pripravke smo te ustrezno dozirali v enakem razmerju kot na poljskem poskusu. V primeru prvega poskusa (I) smo na posameznih parcelah določali tudi vpliv biofumigacije na mikrobiološko floro tal ter dinamiko izotiocianatov in cianida v tleh. Podrobnejša zasnova obeh poljskih poskusov je predstavljena v Preglednici 1.



Slika 1: Setev rastlin s sejalnico Wintersteiger (Tool carier 2700) na poskusnem polju Gomilsko dne 9.5 2011.

Preglednica 1: Pregled obravnavanj v okviru poljskih poskusov biofumigacije v letu 2011 in 2012.

I. Poljski poskus IHPS (SN10)	II. Poljski poskus – Gomilsko (Klinca 1)
1. Rjava gorjušica (Calliente 119) 2. Rjava gorjušica (Calliente 99) 3. Rjava gorjušica (Calliente 61) 4. Bela gorjušica (Achilles) 5. Sudanska trava (Su-su) 6. Sirek (Sucrosorgo 506) 7. Sirek (NK 1990) 8. Sirek (Primsilo) 9. Sirek (Jimggo) 10. Koruza (PR 38B12) 11. Biofence (250g/m²) 12. Basamid Granulat (50g/m²) 13. Urea (37g/m²) 14. Neposejano	1. Sirek (NK 1990) 2. Sirek (Sordan 79) 3. Sirek (Hikane II) 4. Sirek (SS405) 5. Sirek (NK300) 6. Sirek (Trudan 8) 7. Sirek (Jimggo) 8. Sirek (Primsilo) 9. Sirek (Sucrosorgo 506) 10. Sudanska trava (Su-su) 11. Koruza (PR 38B12) 12. Sončnica (Kernal) 13. Oljna redkev (Siletina) 14. Basamid Granulat (50g/m²) 15. Urea (37g/m²) 16. Neposejano
MERITVE: - Določanje učinkovitosti zatiranja <i>Fusarium solani</i>, <i>Verticillium dahliae</i>, <i>Erwinia carotovora</i>, <i>Melodogone hapla</i>. - Določanje vpliva biofumigacije na talno mikrofloro (glive in bakterije). - Določanje glukozinolatov in cianida v rastlinah v času vnosa v tla. - Določanje dinamike izotiocianatov in cianida v tleh v času biofumigacije. - Določitev vnosa organske mase v tla.	MERITVE: - Določanje učinkovitosti zatiranja <i>Fusarium solani</i>, <i>Verticillium albo-atrum</i>. - Določanje glukozinolatov in cianida v rastlinah v času vnosa v tla. - Določitev vnosa organske mase v tla.

Poskusi v rastlinjaku

Poskuse v rastlinjaku smo izvajali v plastenjaku na poskusnem posestvu IHPS. V letu 2011 smo poskus zasnovali na osnovi neposredne setve rastlin v plastenjak. V letu 2012 pa je poskus temeljil na preizkušanju biofumigantnih peletov (Biofence), kemičnega razkuževanja (Basamid G, Urea) ter določanja vplivov lignina (lesni peleti) in biotičnega pripravka na osnovi gliv iz rodu *Trichoderma*; Remedier (Preglednica 2)

Preglednica 2. Pregled obravnavanj v okviru zasnove poskusov biofumigacije v rastlinjaku v letu 2011 in 2012.

I. Poskus v plastenjaku 2011	II. Poskus v plastenjaku 2012
1. Netretirano 2. Rjava gorjušica (Caliente 99) 3. Sudanska trava (Su-su) 4. Bela gorjušica (Achilles) 5. Basamid Granulat (60g/m ²)	1. Netretirano 2. Netretirano + folija 3. Biofence (300g/m ²) 4. Biofence (300g/m ²) + folia 5. Basamid (60g/m ²) 6. Basamid + folija (60g/m ²) 7. Remedier (480g/parcelo) 8. Lesni peleti (500g/m ²) 9. Urea (60g/m ²) 10. Urea + folija (60g/m ²)
MERITVE: - Določanje učinkovitosti zatiranja <i>Fusarium solani</i> , <i>Verticillium dahliae</i> , <i>Erwinia carotovora</i> , <i>Melodogine hapla</i>	MERITVE: - Določanje učinkovitosti zatiranja <i>Fusarium solani</i> , <i>Verticillium dahliae</i> , <i>Erwinia carotovora</i>

2.3 Priprava sond patogenih organizmov in merjenje infekcijskega potenciala

Osnovo sond so v primeru gliv *F. solani*, *V. dahliae*, *V.albo-atrum* in bakterije *E. carotovora* predstavljale 150 ml najlonske vrečke (velikost por 16 µm; Sefar) v katere smo vnesli 50 ml mešanice inokula posameznega organizma in sterilne prsti iz mesta lokacije poskusa v razmerju 30ml tal : 20ml inokula. Inokulum smo pripravili s predhodnim gojenjem omenjenih patogenov v umetno inokuliranih specifičnih gojiščih. Sondam smo zmerili infekcijski potencial pred in po vnosu v tla. V primeru gliv in bakterije smo infekcijski potencial določili s pomočjo specifičnih selektivnih gojišč in tehnike serijskih redčitev. Pri tem smo posamezno sondo razdeli na dva pod-vzorca (a/b) in ju ločeno analizirali. Rezultate smo izrazili v enotah CFU/g.

V primeru ogorčic smo v letu 2011 sonde namenjene določanju vpliva biofumigacije na ogorčico *M. hapla* izdelali iz 150 ml 4 slojnega poliestra (velikost por 16 µm). V letu 2012 smo v poskuse vključili drugo vrsto ogorčic, *Xiphinema rivesi*, sonde pa izdelali iz enoplastnih najlonskih vrečk volumna 100 ml (velikost por 11 µm). Infekcijski potencial smo v obeh primerih določili z metodo vrtinčenja (Hrzič, 1973) in kvantifikacijo osebkov. Metoda omogoča ekstrakcijo živih migratornih ogorčic iz danega vzorca zemlje, ki jih nato kvantificiramo s pomočjo svetlobnega stereo-mikroskopa. Tako pripravljene inokule smo vnesli v 50 ml sterilizirane njivske zemlje, inokulirani vzemlje smo vnesli v vrečko in jo zavarili. Takšne sonde smo vnesli v tla v primeru lončnega in poljskega poskusa.

Priprava inokula in selektivnih gojišč gliv *F. solani*, *V. dahliae* in *V. albo-atrum*:

Inokulum smo pripravili iz pšeničnih zrn, ki smo jih čez noč namakali v raztopini 1 % glukoze in 0,2 % kalijevega nitrata. Namakano zmes smo nato 1 h sterilizirali in okužili s kulturami izolatov gliv, ki smo jih predhodno namnožili v tekočem umetnem gojišču »General fungal medium« z 1 tedensko inkubacijo na rotacijskem stresalniku (80rpm). Sledila je 4 tedenska inkubacija v temi pri sobni temperaturi s tedenskim mešanjem, da smo zagotovili enakomerno razraščanje gliv po substratu. Za namene analiz sond smo uporabili naslednja specifična trda gojišča:

- *V. dahliae*; NP-10 (Sorensen in sod., 1991)
- *V. albo-atrum*; CH2 (Christen, 1982)
- *F. solani*; Komada (Komada, 1975)

Priprava inokula in selektivnih gojišč bakterije *E. carotovora*:

Inokulum smo pripravili iz krompirjevih gomoljev, ki smo jih narezali na 1x1 cm kocke in nato 1h parno sterilizirali. Po sterilizaciji smo koščke zalili s tekočim gojiščem (Luria broth; Sigma), ki smo ga predhodno inokulirali s kulturo *E. carotovora* (NCPPB No. 4098) in 3 dni inkubirali na rotacijskem stresalniku (80rpm). Sledila je 1 tedenska inkubacija z dnevnim mešanjem z namenom zagotovitve enakomerne rasti bakterije. Za analizo sond smo uporabili gojišče PT medium, ki sta ga razvila Burr in Schroth (1977).

Priprava inokula in kvantifikacija ogorčic

V poskusih v letu 2011 smo ogorčice *M. hapla* predhodno umetno namnožili v lončni kulturi na rastlini paradižnika cv. Volovsko srce. Jajčeca ogorčic smo izolirali iz napadenih korenin, ki jih zmeljemo v vodi kateri dodamo 1% raztopino natrijevega hipoklorita. Raztopino mešamo 4 min na magnetnim mešalu ter jo nato prelijemo skozi 850, 250 in 32 mikronska sita. Jajčeca iz spodnjega (32 µm) speremo v čašo in kvantificiramo s pomočjo svetlobnega stereo-mikroskopa. V posamezno sondo smo vnesli 100 jajčec *M. hapla*. V letu 2012 smo v poskuse vključili ogorčice vrste *X. rivesi*, ki so precej večje (širina telesa pri glavi od 11 do 14 µm, dolžina telesa do 2100 µm). Poleg izbora ogorčic z večjim telesom smo tudi pripravili sonde iz bolj finega materiala (velikost por 11 µm). Okuženo zemljo z ogorčicami *X. rivesi* smo pridobili iz naravno okuženega sadovnjaka iz Dorenkerka na Primorskem. Zemljo smo dobro premešali in določili infekcijski potencial z metodo vrtinčenja (Hržič, 1973) in kvantifikacijo osebkov. V posamezno sondo smo vstavili 60 ml naravno okužene zemlje, v kateri je bilo 50 osebkov ogorčic *X. rivesi*. Po izkopu sond smo ponovno določili infekcijski potencial in s tem ugotovili učinkovitost biofumigacije.

2.4 Vpliv biofumigacije na mikrobiološko floro tal

Dinamiko splošne populacije gliv in bakterij v tleh smo ugotavljali z vzorčenjem v treh časovnih intervalih: 1 dan pred biofumigacijo (BI), 7 dni po BI in 14 dni po BI. Vzorce smo jemali iz sredinskega dela vsake parcele na globini 10 cm v količini 100g tal in jih do pričetka analiz hranili v hladilniku pri temperature 4°C. Populacijo smo določali z metodo serijskih redčitev (1:1 – 1: 100.000) na specifičnih gojiščih. Za analizo bakterij smo uporabili 0,2% »tryptic soy agar«, za določanje gliv pa PDA (krompirjev dekstrozni agar) gojišče z antibakteriskimi dodatki (Larkin s sod, 1993). Bakterijske petrijevke smo

inkubirali 4 dni pri temperaturi 25°C, medtem ko smo glivne petrijevke inkubirali 7 dni pri sobni temperaturi. Rezultate analiz smo izrazili v enotah CFU/g tal.

2.5 Določanje glukozinolatov in cianida v rastlinah in tleh

Določanje glukozinolatov v rastlinah

Za določanje vsebnosti glukozinolatov v rastlinskem tkivu smo uporabili vpeljano standardno analizo metodo SIST ISO 9167-1:1998. Vzorce rastlinskih smo zamrznili in liofilizirali. Glukozinolate iz vzorcev smo ekstrahirali z metanolom in jih očistili na ionsko izmenjevalni smoli. Kvalitativna in kvantitativna določitev posameznih glukozinolatov je bila izvedena s tekočinsko kromatografijo (HPLC) z DAD detektorjem pri 229 nm z uporabo internih standardov.

Določanje izotiocinатов v tleh

Izotiocianate v zemeljskih vzorcih smo ekstrahirali z mešanico raztopine CaCl_2 in diklorometana. Kvantitativna določitev analitov je potekala z uporabo GC/MS instrumentacije z uporabo internega standarda cikloheksana.

Določanje cianida v rastlinah in tleh

Za potrebe določanja cianida v vzorcih rastlinskih tkiv in zemelj smo homogenizirali in ekstrahirali z uporabo McIlvainevega pufra ob prisotnosti srebrovega nitrata. Po mehanskem čiščenju ekstrakta je sledila kvantifikacija cianida v supernatantu z uporabo UV-Vis spektrofotometrije pri 580 nm, po predhodni tvorbi barvnega kompleksa.

2.6 Statistična analiza podatkov in diseminacija rezultatov

Rezultate analiz smo statistično ovrednotili z analizo variance in LSD (95%) testom mnogoterih primerjav s pomočjo statistične programske opreme Statgraphics Plus. Rezultate projekta smo sproti predstavljali strokovni javnosti v obliki predavanj in člankov. V pripravi je tudi informativni letak za pridelovalce o principih biofumigacije.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

3.1 Izdelava seznama biofumigantnih rastlin ter pridobitev semenskega materiala

Na osnovi dostopne literature in podatkov smo izdelali seznam najpogosteje uporabljenih biofumigantnih rastlin in produktov, ki se uporabljajo za namene zatiranja različnih talnih škodljivih organizmov (Preglednica 3). Najbolj razširjena je uporaba različnih sort rjave gorjušice (*Brassica juncea*) in bele gorjušice (*Sinapis alba*), ki vsebujejo visoko vsebnost glukozinolatov in zagotavljajo visok vnos zelen mase v tla (50-100t zelene mase/ha). Uporaba rastlin iz rodu *Sorghum* se komercialno še ne trži v obliki posebnih biofumigantnih sort, ampak lahko podatke o tem zasledimo le na nivoju raziskovalnih in strokovnih objav. Seme rastlin za poskusne namene smo pridobili v sodelovanju z domačimi seminarskimi hišami (Agrosaat, Syngenta), ter podjetjem Plant Solution, Anglija in Sorghum Partners, LLC, ZDA.

Preglednica 3: Seznam najpogostejše omenjenih biofumigantnih rastlin in produktov, ki se uporabljajo za namene zatiranja talnih škodljivih organizmov v svetu.

Biofumigantna rastlina/product	Žlahtnitelj/Dobavitelj
Mustclean New Generation 666 (<i>Brassica juncea</i>)	Wallendbeen Station' Wallendbeen NSW Australia 2588 http://www.mustclean.com.au/index.html wallendbeen.station@bigpond.com.au
Mustclean 666y (<i>Brassica juncea</i>)	
Mustclean Gladiator1 (<i>Brassica juncea</i>)	
Mustclean Rex (<i>Brassica juncea</i> , <i>Sinapis alba</i>)	
Caliente Brand Mustard 119* (<i>Brassica juncea</i>)	Plant Solution, Downside Bridge Road, Pyports, Cobham, Surrey KT11 3EH *žlahtnitelj- Research Centre for Industrial Crops, Via di Corticella, 133, 0128 – BOLOGNA, Italija
Caliente Brand Mustard 99* (<i>Brassica juncea</i>)	
Caliente Brand Mustard 61* (<i>Brassica juncea</i>)	
Nemat (<i>Eruca sativa</i>)*	
Mighty Mustard TM (<i>Brassica juncea</i> , <i>Sinapis alba</i>)	Davidson Commodities, Inc. 4407 N. Division St. Suite, 811, Spokane, WA 99207
Terra Protect (<i>Brassica juncea</i> , <i>Sinapis alba</i> , <i>Raphanus sativus</i>)	P. H. Petersen Saatzucht, Lundsgaard GmbH & Co. KG, Streichmühler Str. 8 a, 24977 Grundhof
CureGro – mešanica ISCI99 in <i>Sinapis alba</i>	Branston Holdings LTD, Mere Road, Bradston, Lincon LN4-1NJ, UK
FumiGro – <i>Eruca sativa</i> + ISCI99 (primerno za zatiranje nematod)	
ISCI 20 (<i>Brassica juncea</i>)	Research Centre for Industrial Crops, Via di Corticella, 133, 0128 – BOLOGNA, Italija
ISCI 99 (<i>Brassica juncea</i>)	
ISCI 7 (<i>Brassica carinata</i>)	
ISCI 61(<i>Brassica juncea</i>)	
ISCI 27 (<i>Brassica nigra</i>)	
ISCI 15 (<i>Lepidium campestre</i>)	
ISCI 101 (<i>Lepidium sativum</i>)	
ISCI 100 (<i>Barbarea verna</i>)	
ISCI 03 (<i>Rapistrum rugosum</i>)	
Iberina ISCI (<i>Sinapis arvensis</i>)	
Ostale rastline, ki imajo biofumigantni učinek na škodljive organizme: Sudanska trava, sirek in hibridi znotraj rodu <i>Sorghum</i> (npr. Sudex (<i>Sorghum bicolor</i> x <i>Sorghum Sudanese</i>), brokoli, ajda, rž, oves, ječmen, žametnice (<i>Tagetes</i> sp.), sivka (<i>Lavandula spica</i>).	
Biofumigantni proizvodi: BIOFENCE produkt mlete moke iz semena biofumigantne rastline ISCI7 (<i>B.carinata</i>); Triumph Italija, Livorno Italy	

3.2 Rast, razvoj in oskrba rastlin v okviru poljskih poskusov

V okviru projekta smo izvedli 2 dvoletna poljska poskusa biofumigacije na lokacijah IHPS Žalec (njiva SN10) in Gomilsko (njiva Klinca II). Rastline smo redno oskrbovali v skladu z dobro poskusno prakso. V primeru rastlin iz rodu *Brassica* je bilo potrebno izvesti ciljna škropljenja proti kapusovemu bolhaču (*Phyllotreta undulate*) in listnim pegavostim. V primeru rastlin iz rodu *Sorghum* nismo opazili posebnosti.

Preglednica 4: Pregled delovnih postopkov na poskusni površini IHPS Žalec.

Rastlina	Setvena norma	Oskrba 2011	Oskrba 2012
Rjava gorjušica (Calliente 119)	15kg/ha	20.4. priprava zemlje 21.4. količenje in setev 30.4 herbicidi (Butisan 400SC)	18.4. priprava zemlje 24.5. količenje in setev 7.6., insekticidi, herbicidi (Karate, Butisan 400SC)
Rjava gorjušica (Calliente 99)	10kg/ha	20.5. insekticidi, fungicid (Actara, Quadris)	20.6. foliarno gnojenje (Cvetal) in gnojenje s dušikom (KAN 50 kg/ha)
Rjava gorjušica (Calliente 61)	10kg/ha	27.5. gnojenje z dušikom (KAN 50kg/ha)	28.6. insekticidi in fungicidi (Actara, Quadris)
Bela gorjušica (Achilles)	25kg/ha*	2.6. foliarno gnojenje (Cvetal) 16.6. vzorčenje za določitev organske mase in za analizo glukozinulatov ter CN 21.6. mulčenje, zaoravanje in vnos sond	17.7. vzorčenje za določitev organske mase in za analizo glukozinulatov ter CN 18.7. mulčenje, zaoravanje in vnos sond
Sudanska trava (Su-su)	30kg/ha*	20.4. priprava zemlje 21.4. količenje in setev 30.4 herbicidi (Primextra TZ Gold)	18.4. priprava zemlje 24.5. količenje in setev 26.5. herbicidi (Primextra TZ Gold)
Sirek (Sucrosorgo 506)	25kg/ha*	12.5. herbicidi (Basagran 480)	8.6. ponovna setev
Sirek (NK 1990)	25kg/ha*	27.5. gnojenje z dušikom (KAN 50kg/ha)	20.6. foliarno gnojenje (Cvetal) in gnojenje s dušikom (KAN 50 kg/ha)
Sirek (Primsilo)	25kg/ha*	30.5. herbicidi (Dual Gold)	17.7. vzorčenje za določitev organske mase in za analizo glukozinulatov ter CN
Sirek (Jimggo)	25kg/ha*	2.6. foliarno gnojenje (Cvetal)	18.7. zaoravanje in vnos sond
Koruza (PR 38B12)	80.000s./ha*	3.6. herbicidi (Banvel) 16.6. vzorčenje za določitev organske mase in za analizo glukozinulatov ter CN 21.6. mulčenje, zaoravanje in vnos sond	

*Priporočena setvena norma; v poskusu smo jo povečali za 2x.



Slika 2: Poskusno polje biofumigacije na lokaciji IHPS v letu 2011 v času zaoravanja rastlin (21.6).



Slika 3: Poskusno polje biofumigacije na lokaciji IHPS v letu 2012 v času zaoravanja rastlin (18.7).

Preglednica 5: Pregled delovnih postopkov na poskusni površini Gomilsko.

Rastlina	Setvena norma*	Oskrba 2011	Oskrba 2012
Sirek (NK 1990)	25kg/ha	5.5. priprava zemlje 9.5. količenje in setev	3.5. priprava zemlje 4.5. količenje in setev
Sirek (Sordan 79)	25kg/ha	11.5. herbicidi (Primextra TZ Gold)	8.5. herbicidi (Primextra TZ Gold)
Sirek (Hikane II)	25kg/ha	30.5. herbicidi (Banvel 480)	27.6. gnojenje z dušikom (KAN 50kg/ha)
Sirek (SS405)	25kg/ha	10.6. gnojenje z dušikom (KAN 50kg/ha)	11.07. vzorčenje za določitev organske mase in za analizo glukozinulatov ter CN)
Sirek (NK300)	25kg/ha	14.6. foliarno gnojenje (Cvetal)	12.07. mulčenje, zaoravanje in vnos sond
Sirek (Trudan 8)	25kg/ha	15.7. vzorčenje za določitev organske mase in za analizo glukozinulatov ter CN)	
Sirek (Jimgo)	25kg/ha	18.7. vzorčenje za določitev organske mase in za analizo glukozinulatov ter CN)	
Sirek (Primsilo)	25kg/ha	19.7. mulčenje, zaoravanje in vnos sond	
Sirek (Sucrosorgo 506)	25kg/ha		
Sudanska trava (Su-su)	30kg/ha		
Koruza (PR 38B12)	80.000semen/ha		
Sončnica (Kernal)	65.000seme/ha	11.5. herbicidi (Afalon, Dual Gold) Vse ostalo je enako oskrbi sirkov in koruze.	8.5. herbicidi (Afalon, Dual gold) Vse ostalo je enako oskrbi sirkov.
Oljna redkev (Siletina)	30kg/ha	11.5. herbicidi (Butisan 400 SC) Vse ostalo je enako oskrbi sirkov in koruze.	25.5. insekticidi, fungicidi (Actara, Karate, Quadris) Vse ostalo je enako oskrbi sirkov in koruze.

*Priporočena setvena norma; v poskusu smo jo povečali za 2x.

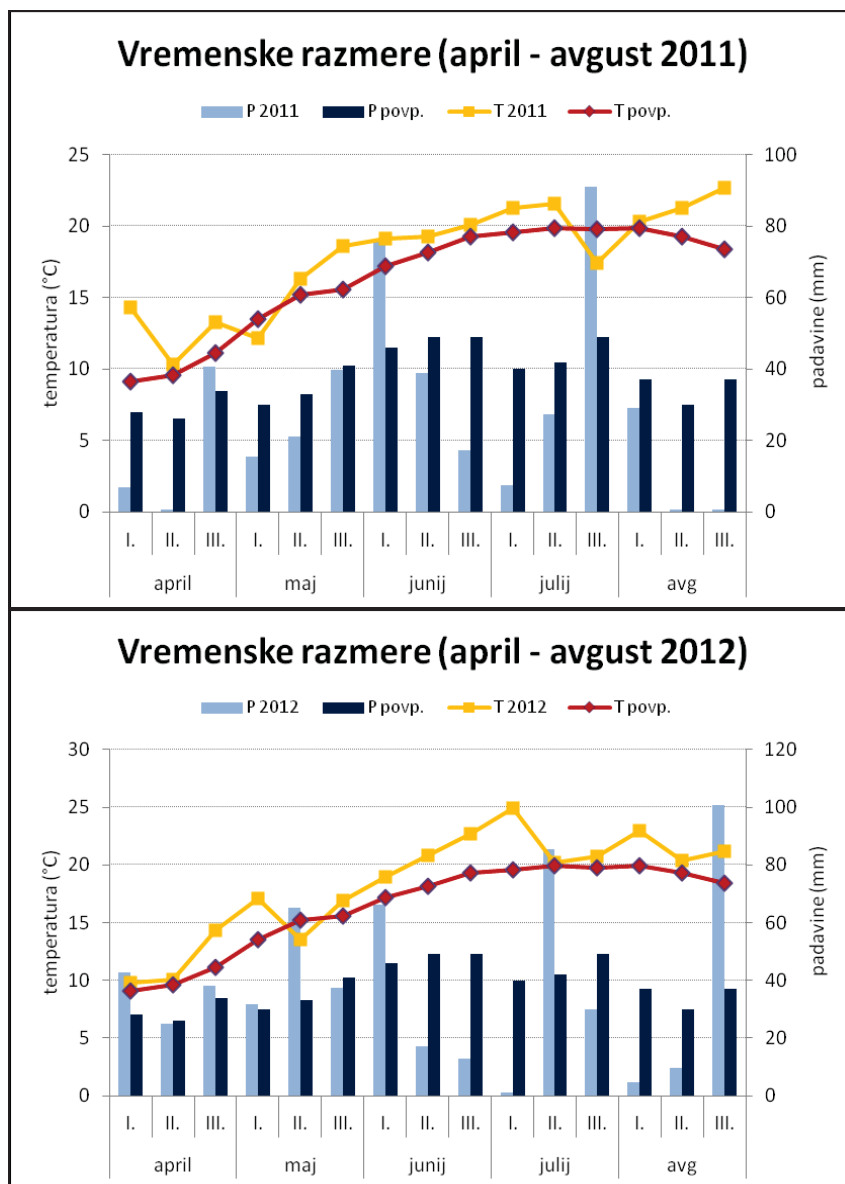


Slika 4: Poskusno polje biofumigacije na lokaciji Gomilsko dne 30.6. 2011.



Slika 5: Poskusno polje biofumigacije na lokaciji Gomilsko dne 10.7.2012.

Vremenske razmere v letu 2011 so bile v obdobju izvajanja poskusov (maj-začetek julija) ugodne in so z rednimi padavinami in zmernimi temperaturami zagotavljale normalen razvoj rastlin. V letu 2012 pa smo v mesecu juniju in juliju zabeležili pomanjkanje padavin z visokimi temperaturami, kar se je izrazilo v slabši rasti in hitremu dozorevanju križnic (Grafikon 1).



Grafikon 1: Vremenske razmere v času izvajanja poljskih poskusov biofumigacije v letu 2011 in 2012 (Vir: Adcon agrometeorološka postaja na IHPS Žalec).

3.3 Meritve biomase rastlin

Z namenom določitve vnosa organske mase v tla v času zaoravanja rastlin smo na parcelah vseh obravnavanj določili število rastlin/m², ter stehali in izmerili v višino 4 reprezentativne rastline. Hkrati smo odvzeli tudi vzorce za določitev deleža suhe snovi, da smo lahko ocenili celokupni vnos organske mase v tla izražene v suhi snovi. V primeru rastlin iz rodu *Brassica* smo zaradi različne vsebnosti glukozinulatov v koreninah in steblo ločeno opravili meritve za ti dve vrsti tkiva. Pri tem smo določili razmerje v teži med korenino in stebлом 1:7.

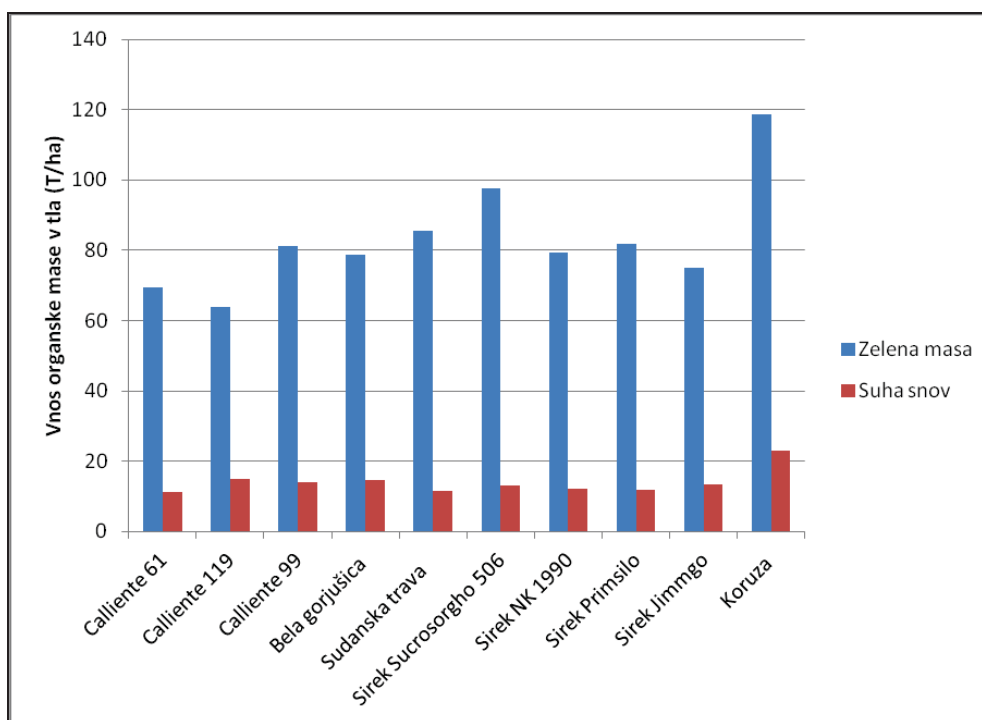
Poskusno polje IHPS Žalec

V letu 2011 se je količina biomase v času zaoravanja rastlin gibala med 64-118 T sveže mase/ha, oz 11,3-23 T suhe snovi/ha, kar je glede na prejšnje študije dovolj za uspešno izvedbo biofumigacije. Najvišje vrednosti smo dosegli v primeru koruze, pri sirkih je najvišjo vrednost dosegla sorta Sucrosorgo 506, v primeru križnic pa bela gorjušica in rjava gorjušica – sorta Calliente 99 (Preglednica 6, Grafikon 2). V letu 2012 smo zaradi neugodnih vremenskih pogojev zabeležili več kot 50% redukcijo v biomasi, pri čemer so se kot najbolj občutljive na neugodne pogoje izkazale križnice. Te so prehitro zaključile rast in niso razvile želene količine biomase (Preglednica 7; Grafikon 3).

Preglednica 6: Rezultati meritev biomase na poskusnem polju IHPS Žalec v letu 2011.

Obravnavanje	Povp. št. rastl/m ²	Povp. teža rastline (g)	Povp. višina rastline (cm)	Teža zelene snovi/ha (T)	*Povp. delež suhe snovi v rastlinah (%)		Teža suhe snovi/ha (T)
					Kor.	Steblo	
Calliente 61	190	36,5	110,3	69,4	23,8	15,1	11,3
Calliente 119	256	25,0	111,9	64,0	27,1	22,7	14,8
Calliente 99	180	45,1	110,2	81,2	24,8	15,8	13,9
Bela gorjušica	270	29,2	109,6	78,8	26,7	17,0	14,5
Sudanska trava	110	77,6	121,1	85,4	13,3		11,4
Sirek Sucrosorgo 506	115	84,9	113,8	97,6	13,3		13,0
Sirek NK 1990	142	56,0	96,1	79,5	15,3		12,2
Sirek Primsilo	106	77,1	94,2	81,7	14,7		12,0
Sirek Jimngo	110	68,3	85,9	75,1	18,0		13,5
Koruzna	32	371,2	155,8	118,7	19,5		23,1

*Razmerje v teži med korenino in stebлом je 1:7

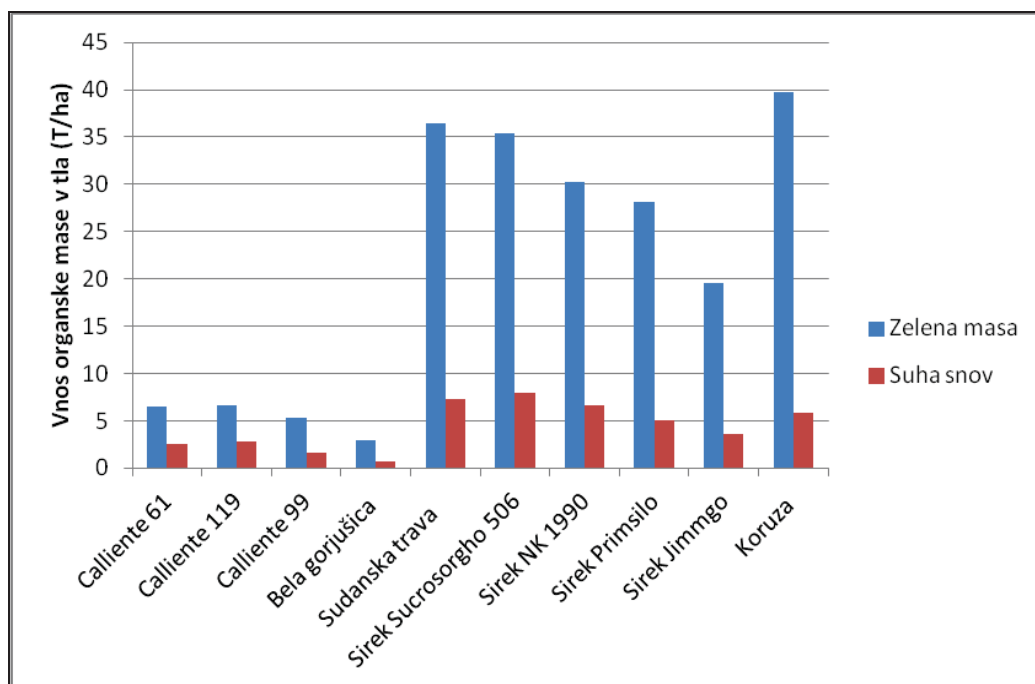


Grafikon 2: Vnos organske mase v tla v času zaoravanja biofumigantnih rastlin na poskusnem polju IHPS v letu 2011.

Preglednica 7: Rezultati meritev biomase na poskusnem polju IHPS Žalec v letu 2012.

Obravnavanje	Povp. št. rastl/m ²	Povp. teža rastline (g)	Povp. višina rastline (cm)	Teža zelene snovi/ha (T)	*Povp. delež suhe snovi v rastlinah (%)		Teža suhe snovi/ha (T)
					Kor.	Steblo	
Calliente 61	81	8	79,3	6,5	45,8	38,7	2,56
Calliente 119	90	7,3	80,5	6,6	46,3	42,1	2,8
Calliente 99	79	6,7	67	5,3	45,2	28,4	1,63
Bela gorjušica	26	11,5	43,1	3,0	31,9	22,7	0,7
Sudanska trava	26	140,3	91	36,5	19,9		7,3
Sirek Sucrosorgo 506	29	122,1	86,8	35,4	22,3		7,9
Sirek NK 1990	33	91,7	80,1	30,3	21,8		6,6
Sirek Primsilo	36	78,2	81,6	28,2	18,2		5,1
Sirek Jimngo	20	97,7	82,8	19,5	18,5		3,6
Koruza	9	441,6	135,5	39,7	14,6		5,79

*Razmerje v teži med korenino in stebлом je 1:7



Grafikon 3: Vnos organske mase v tla v času zaoravanja biofumigantnih rastlin na poskusnem polju IHPS v letu 2012.

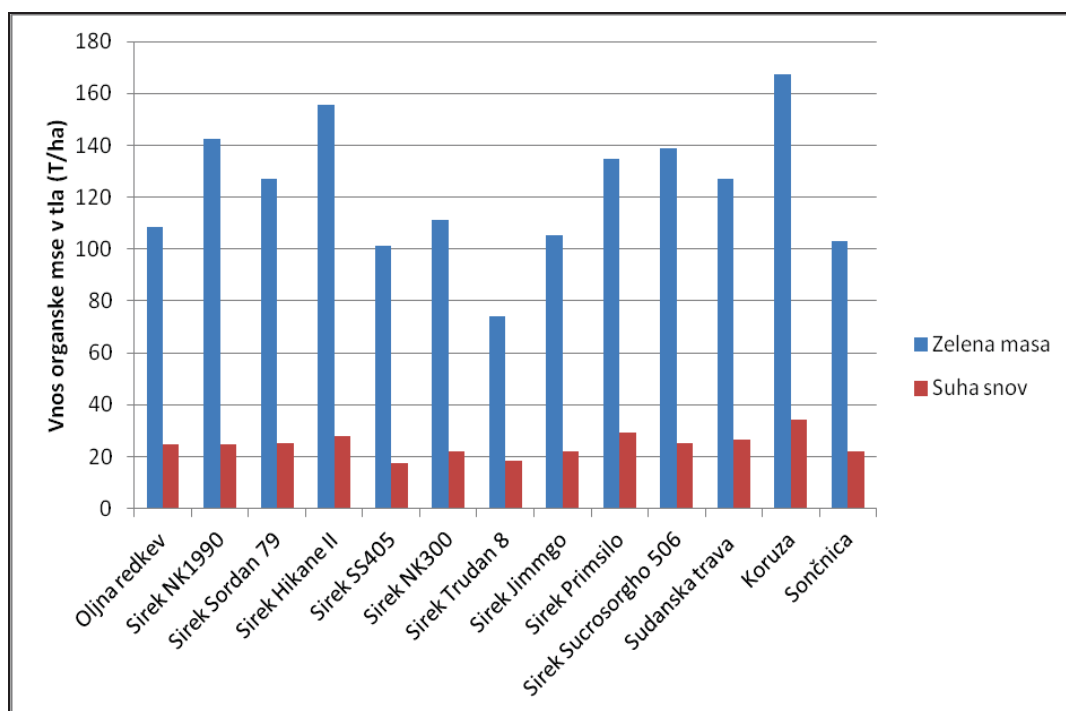
Poskusno polje Gomilsko

V letu 2011 se je količina biomase v času zaoravanja rastlin gibala med 74-167 T sveže mase/ha, oz 17-34 T suhe snovi/ha. Najvišje vrednosti smo dosegli v primeru koruze (34,4Tss/ha), medtem ko so ostale rastline v povprečju dosegle 25Tss/ha (Preglednica 8, Grafikon 4). V letu 2012 je bila količina biomase zaradi sušnih razmer približno 2-3 x nižja, medtem ko so razmerja med rastlinami ostala primerljiva letu 2011 (Preglednica 9, Grafikon 5).

Preglednica 8: Rezultati meritev biomase na poskusnem polju Gomilsko v letu 2011.

Obravnavanje	Povp. št. rastl/m ²	Povp. teža rastline (g)	Povp. višina rastline (cm)	Teža zelene snovi/ha (T)	*Povp. delež suhe snovi v rastlinah (%)		Teža suhe snovi/ha (T)*
					Kor.	Steblo	
Oljna redkev	124	87,4	61,9	108,4	29,8	21,5	24,6
Sirek NK1990	85	167,7	168,4	142,5	17,2		24,5
Sirek Sordan 79	89	142,7	237,3	127,0	19,8		25,1
Sirek Hikane II	92	169,2	186,7	155,7	18,1		28,1
Sirek SS405	82	123,2	216,2	101,1	17,4		17,6
Sirek NK300	110	101,4	151,7	111,1	19,7		21,9
Sirek Trudan 8	121	61,2	185,7	74,1	24,6		18,2
Sirek Jimmgo	79	133,4	114,6	105,4	21,1		22,2
Sirek Primsilo	86	82,8	150,6	134,9	21,7		29,3
Sirek Sucrosorgo 506	92	151,6	214,0	138,9	18,1		25,1
Sudanska trava	119	106,7	204,0	126,9	20,7		26,3
Koruzna	20	835,8	254,9	167,2	20,6		34,4
Sončnica	13	792,3	186,8	102,9	21,5		22,1

*Razmerje v teži med korenino in stebлом je 1:7

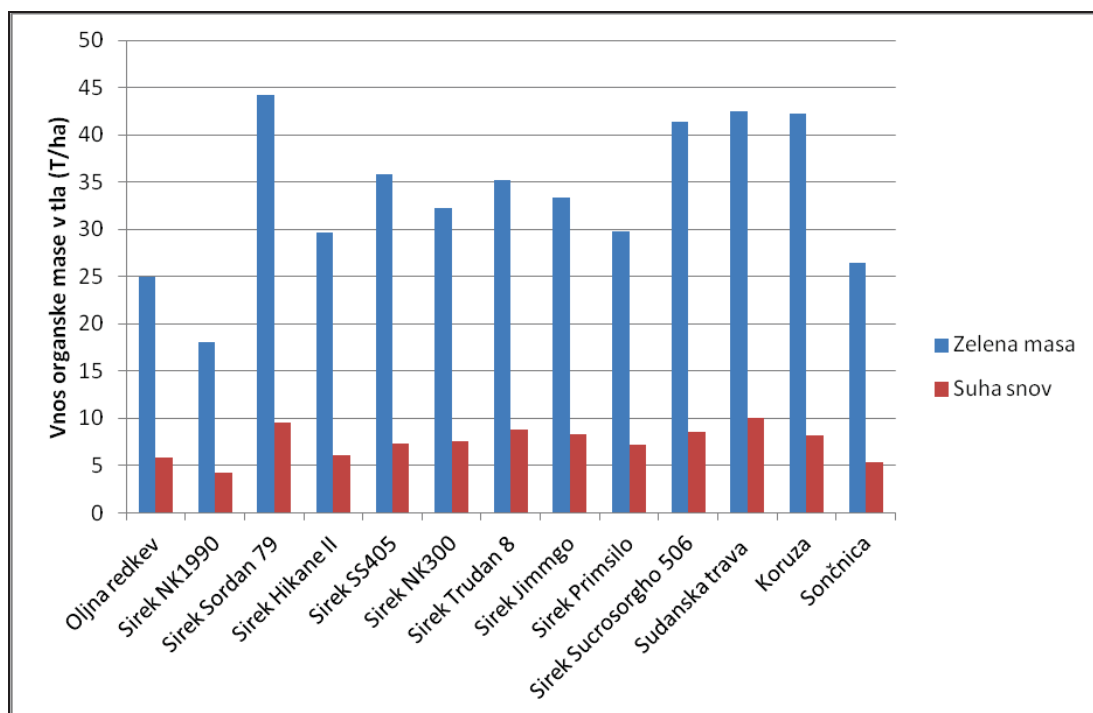


Grafikon 4: Vnos organske mase v tla v času zaoravanja biofumigantnih rastlin na poskusnem polju Gomilsko v letu 2011.

Preglednica 9: Rezultati meritev biomase na poskusnem polju Gomilsko v letu 2012.

Obravnavanje	Povp. št. rastl/m ²	Povp. teža rastline (g)	Povp. višina rastline (cm)	Teža zelene snovi/ha (T)	*Povp. delež suhe snovi v rastlinah (%)		Teža suhe snovi/ha (T)*
					Kor.	Steblo	
Oljna redkev	90	27,8	119,9	25,0	32,4	22	5,9
Sirek NK1990	56	32,4	99,9	18,1	24,0		4,3
Sirek Sordan 79	64	69	147	44,2	21,8		9,6
Sirek Hikane II	75	39,5	109,2	29,6	20,5		6,1
Sirek SS405	64	56	133,5	35,8	20,7		7,3
Sirek NK300	55	58,6	107,5	32,2	23,6		7,6
Sirek Trudan 8	86	40,9	143,4	35,2	25,0		8,8
Sirek Jimmgo	36	92,4	105,5	33,3	24,9		8,3
Sirek Primsilo	55	54,2	116,2	29,8	24,1		7,2
Sirek Sucrosorgo 506	56	74	147,3	41,4	20,6		8,5
Sudanska trava	62	68,5	141,2	42,5	23,9		10,1
Koruza	8	528,3	172,8	42,3	19,3		8,2
Sončnica	5	530,1	145,9	26,5	19,9		5,3

*Razmerje v teži med korenino in stebлом je 1:7



Grafikon 5: Vnos organske mase v tla v času zaoravanja biofumigantnih rastlin na poskusnem polju Gomilsko v letu 2012.

3.4 Izvedba in določitev vpliva biofumigacije na zmanjšanje infekcijskega potenciala škodljivih organizmov v tleh

Aktivni del biofumigacije v katerem prihaja do intenzivnega nižanja infekcijskega potenciala škodljivih organizmov se prične ob vnosu rastlinskega materiala v tla in traja 2-3 tedne. Tehnično postopki vnosa zajemajo mulčenje, pri katerem se nemudoma prične sproščanje plinov, zato je potrebno takojšnje zaoravanje rastlin v tla, čemur sledi poravnava in homogenizacija tal s pred-setvenikom. Z namenom zadržanje čim večje količine plinov je priporočljivo tla povaljati in postopek izvajati, ko imajo tla dovolj vlage (Slika 6). Tako se priporoča izvedba biofumigacije po dežju in v primerni razvojni fazi rastlin. Za križnice je to v fazi polnega cvetenja, medtem ko se za rastline iz rodu *Sorghum* priporoča faza višine rastlin 1-1,5m oz. faza intenzivne rasti pred cvetenjem, ko vsebujejo najvišje koncentracije cianogenih glikozidov. V primeru naših poskusov smo izvajali vse omenjene tehnične postopke ter zaradi velikega števila različnih rastlin določali najprimernejši čas vnosa na osnovi cvetenja križnic ter določitve maksimalnega časa rasti rastlin 2 meseca.



Slika 6: Izvedba agro-tehničnih postopkov v času vnosa rastlin v tla na poskusu Gomilsko v letu 2012.

Učinkovitost posameznih obravnavanj smo merili s sondami v katere smo vnesli inokulum škodljivih organizmov. Neposredno po vnosu rastlin v tla oz. po izvedbi posameznih postopkov smo sonde vnesli na globino 20cm in jih izpostavili 14 dnevnem intervalu (Slika 7). Hkrati smo v ob izvedbi poljskih poskusov za vsak organizem izvedli tudi ekvivalentni lončni poskus. Lončke smo v času mulčenja napolnili z rastlinskim materialom in tlemi iz posamezne parcele v razmerju 50:50 ter vanje položili po eno sondo za vsak organizem (Slika 8). Sledil je izkop sond in laboratorijske analize infekcijskega potenciala.



Slika 7: Vnos sond v tla in mikrobiološka analiza na selektivnih gojiščih.

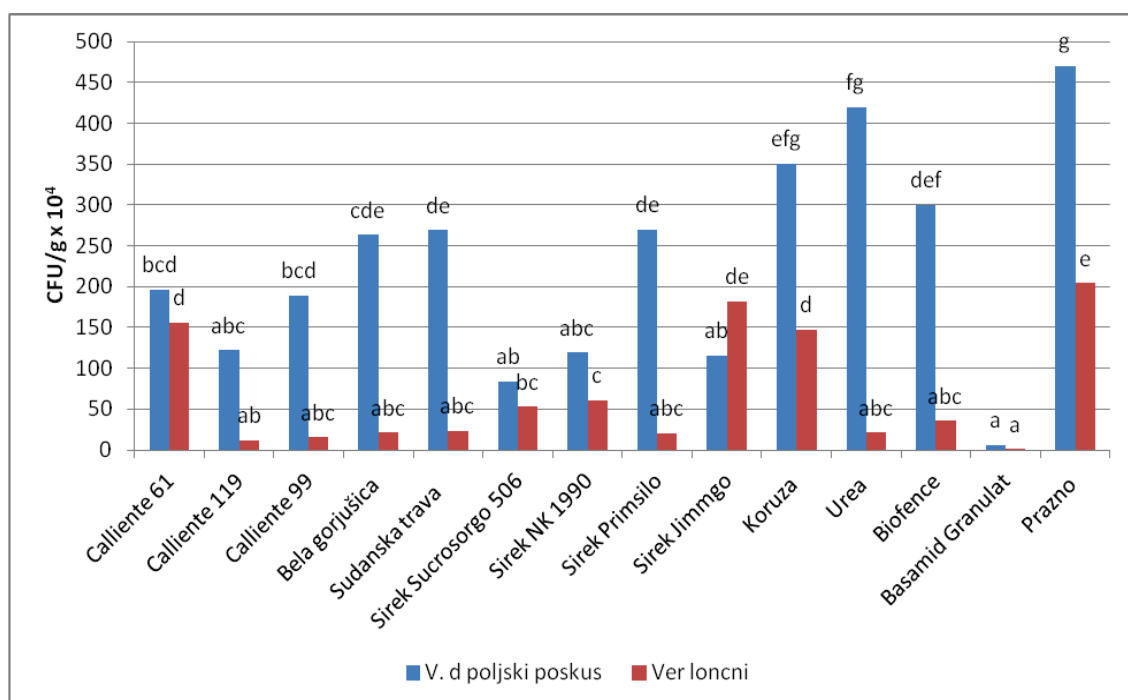


Slika 8: Izvedba lončnega poskusa biofumigacije. Vsak lonček predstavlja v primeru poljskega poskusa določeno parcelo.

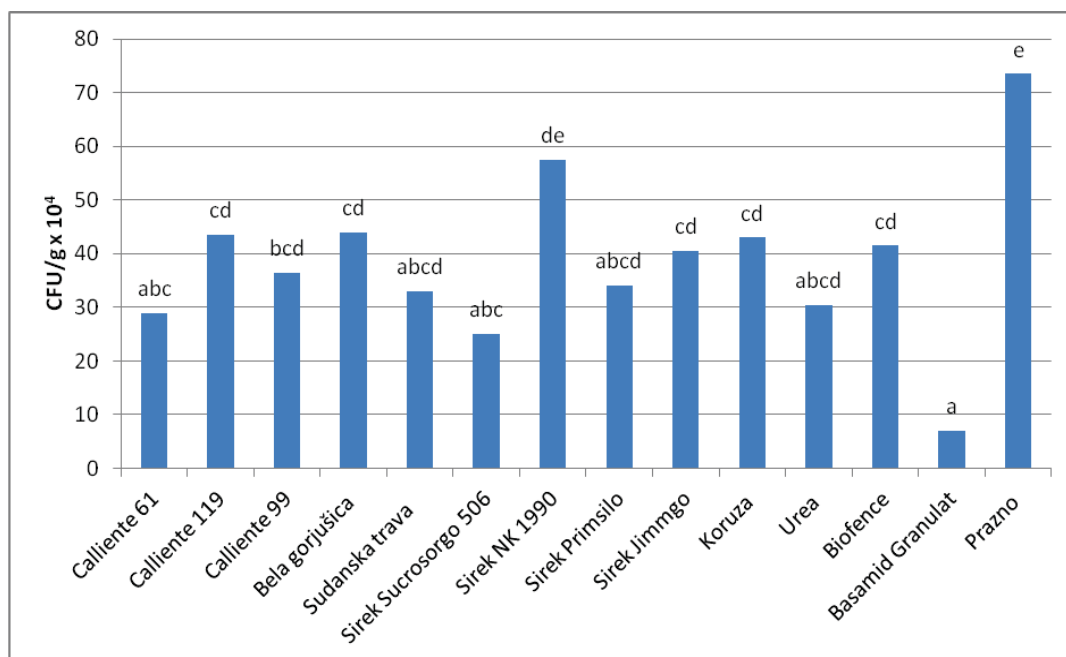
3.4.1 Poskusno polje IHPS Žalec

Določanje vpliva biofumigacije na glivo *Verticillium dahliae*

V letu 2011 smo v okviru poljskega poskusa pri vrednotenju posameznih obravnavanj, ki smo jih primerjali s kontrolno (neposejano) površino ugotovili statistično najboljše delovanje v primeru sirkov Sucrosorgo 506, Jimmgo in NK 1990, ter v primeru rjave gorjušice Calliente 199. Ostale biofumigantne rastline in biofumigantni pripravek »Biofence« so formirali skupino, pri kateri smo dobili slabše rezultate, vendar smo kljub temu zaznali negativen vpliv na glivo *V. dahliae*. V primeru zaoravanja koruze in uporabe gnojila »Urea« nismo zaznali razlik v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem. Standardni kemični pripravek »Basamid Granulat« je po pričakovanjih dosegel najboljše rezultate (Grafikon 6; modri stolpci). Ekvivalentna izvedba poskusa na nivoju lončnega poskusa je v večini primerov pokazala primerljive rezultate s poljskim poskusom. Razlike so se izrazile v primeru sirka Jimmgo, kjer nismo zaznali negativnega vpliva na glivo *V. dahliae* in v primeru gnojila Urea ter pripravka Biofence, ki sta na nivoju lončnega poskusa izrazila bistveno boljše delovanje, kot v poljskem poskusu (Grafikon 6; rdeči stolpci). Poljski poskus smo v enaki zasnovi ponovili v letu 2012 pri čemer so vsa obravnavanja z izjemo sirka NK 1990 izrazila negativen vpliv na glivo *V. dahliae*. Razlik med posameznimi obravnavanji biofumigacije ni bilo možno določiti, ponovno pa smo najvišjo učinkovitost dosegli s kemičnim pripravkom Basamid Granulat (Grafikon 7).



Grafikon 6: Rezultati poljskega in lončnega poskusa določanja vpliva biofumigacije na glivo *Verticillium dahliae* v letu 2011 na IHPS.

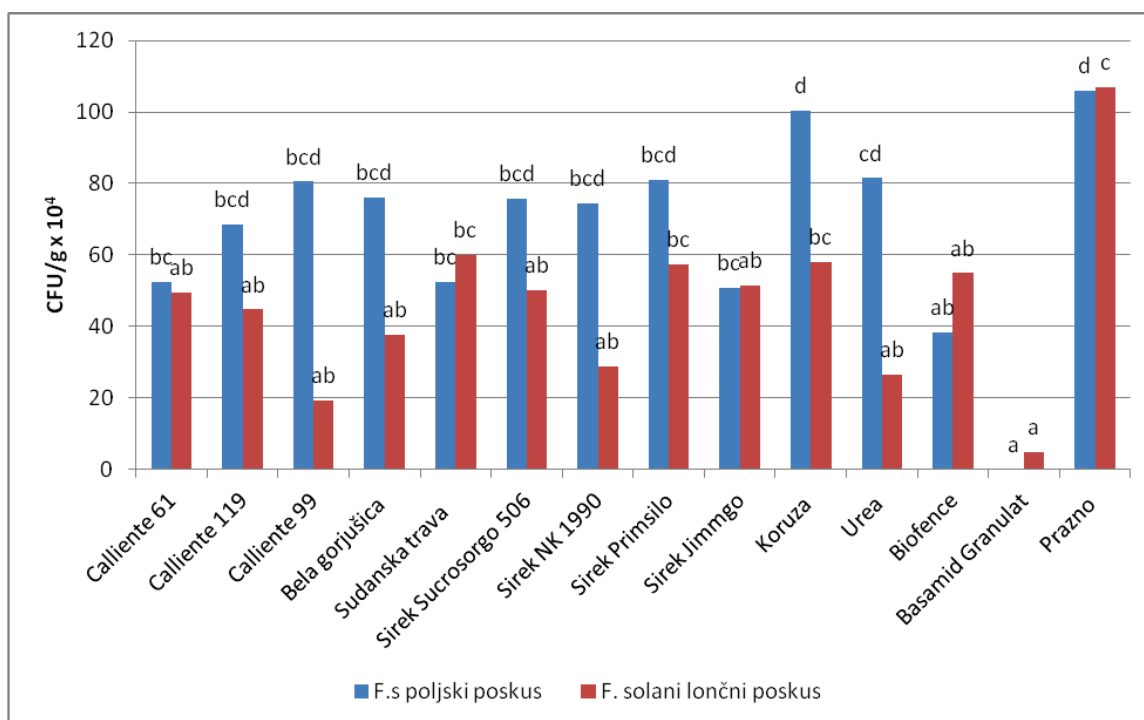


Grafikon 7: Rezultati poljskega poskusa določanja vpliva biofumigacije na glivo *Verticillium dahliae* v letu 2012 na IHPS.

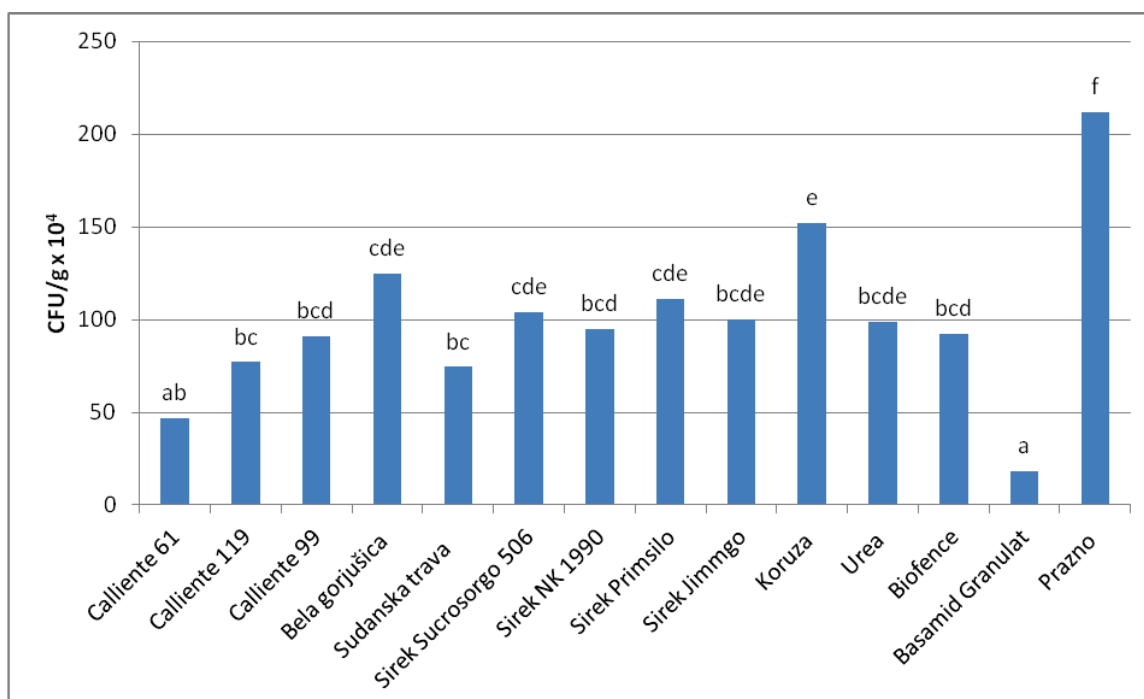
Določanje vpliva biofumigacije na glivo *Fusarium solani*

V okviru poljskega poskusa v letu 2011 smo statistično značilen padec infekcijskega potenciala glive *F. solani* zaznali v primeru obravnavanj »Biofence«, rjave gorjušice Calliente 61, sirka Jimngo in sudanske trave. Ostala biofumigantna obravnavanja večinoma niso izrazila negativnega vpliva na *F. solani*. Vnos koruze in uporaba gnojila »Urea« prav tako ni pokazala razlik s kontrolnim obravnavanjem. V primeru lončnega poskusa smo zaznali večje razlike, saj smo statistično značilen negativen vpliv na *F. solani* zaznali pri vseh obravnavanjih, razen v primeru koruze, sirka Primsilo in sudanske trave. V primeru obeh poskusov smo najvišjo učinkovitost dosegli s kemičnim pripravkom Basamid Granulat (Grafikon 8).

Ponovljen poljski poskus v letu 2012 je izrazil negativen vpliv vseh biofumigantnih obravnavanj na glivo *F. solani*, med katerimi smo najboljše rezultate dosegli v primeru rjave gorjušice Calliente 61 in Calliente 119, ter sudanske trave. Kemično razkuževanje je ponovno doseglo najvišjo učinkovitost (Grafikon 9).



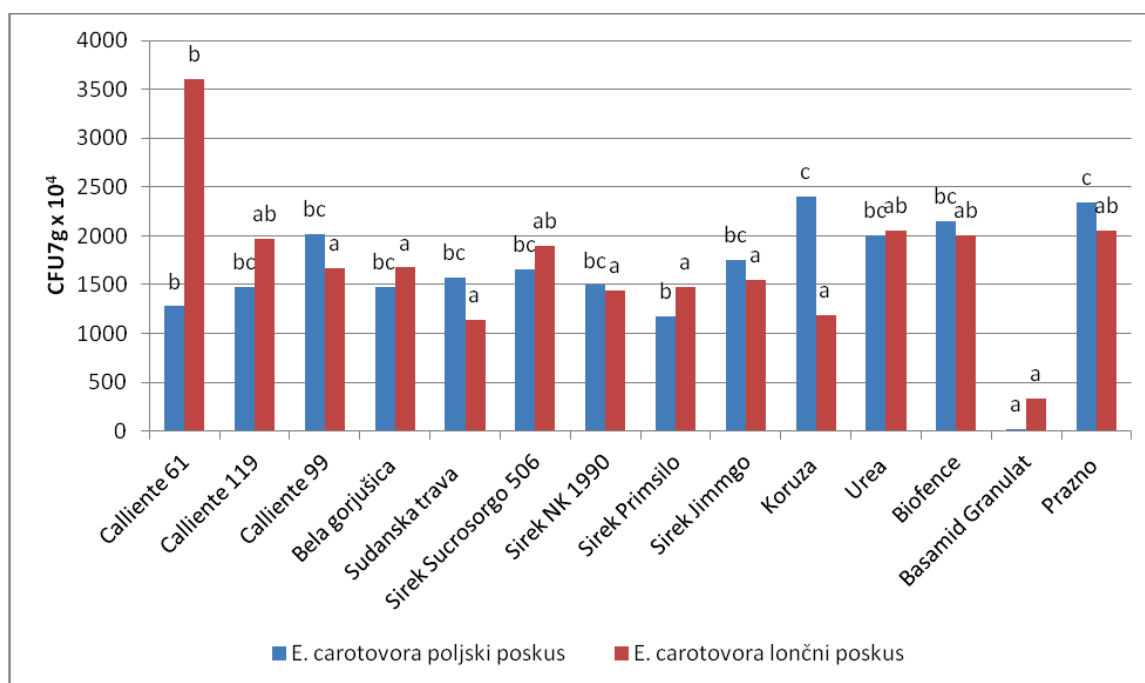
Grafikon 8: Rezultati poljskega in lončnega poskusa določanja vpliva biofumigacije na glivo *Fusarium solani* v letu 2011 na IHPS.



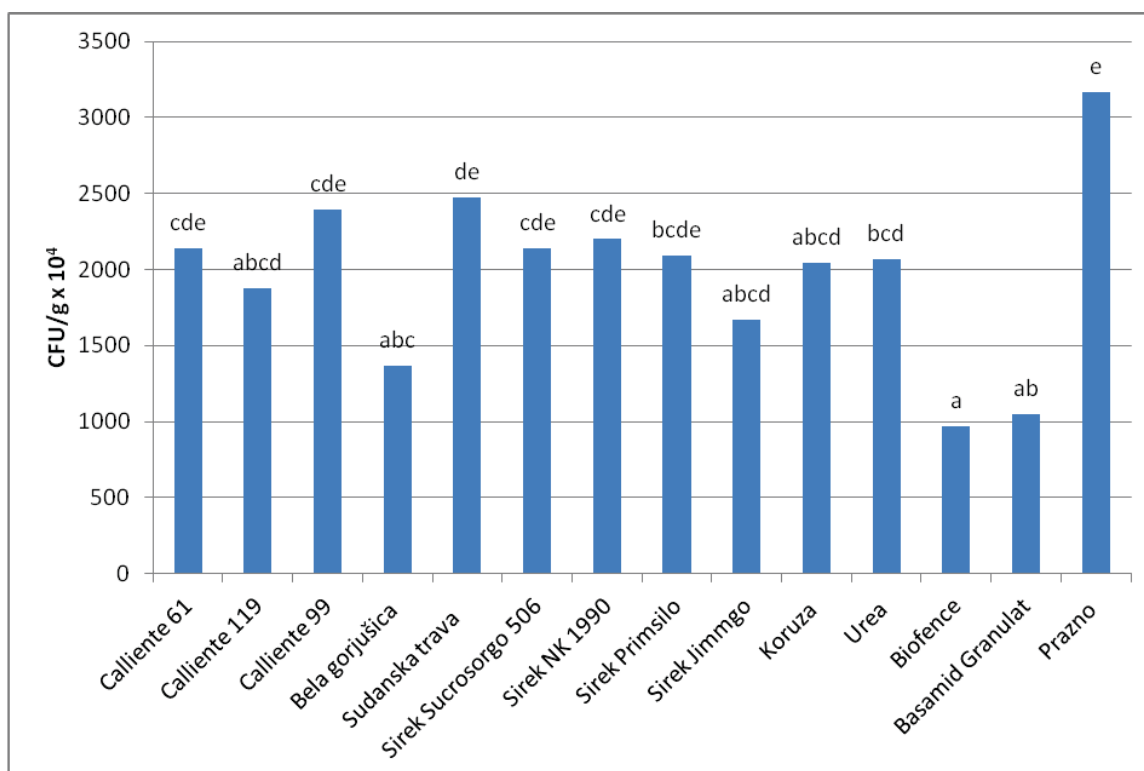
Grafikon 9: Rezultati poljskega poskusa določanja vpliva biofumigacije na glivo *Fusarium solani* v letu 2012 na IHPS.

Določanje vpliva biofumigacije na bakterijo *Erwinia carotovora*

Rezultati poljskega poskusa v letu 2011 so pokazali negativen vpliv biofumigacije na *E. carotovora* v primeru zaoravanja rjave gorjušice Calliente 61 in sirka Jimmgo. Ostala obravnavanja, razen kemičnega zatiranja, niso izrazila statistično značilnega vpliva na nižanje infekcijskega potenciala te bakterije. Podobne rezultate smo dobili tudi v primeru lončnega poskusa, kjer nobeno od biofumigantnih obravnavanj ni doseglo statistično značilnega negativnega vpliva na *E. carotovora*. V primeru rjave gorjušice Calliente 61 in sirka Jimmgo, ki sta v poljskem poskusu izrazila negativen vpliv, tega na nivoju lončnega poskusa nismo potrdili oz. je v primeru Calliente 61 prišlo celo do povečanja populacije. Ponovitev poljskega poskusa v letu 2012 je potrdila predhodne rezultate. Negativen učinek smo zaznali v le v primeru pripravka Biofence in bele gorjušice.



Grafikon 10: Rezultati poljskega in lončnega poskusa določanja vpliva biofumigacije na bakterijo *Erwinia carotovora* v letu 2011 na IHPS.

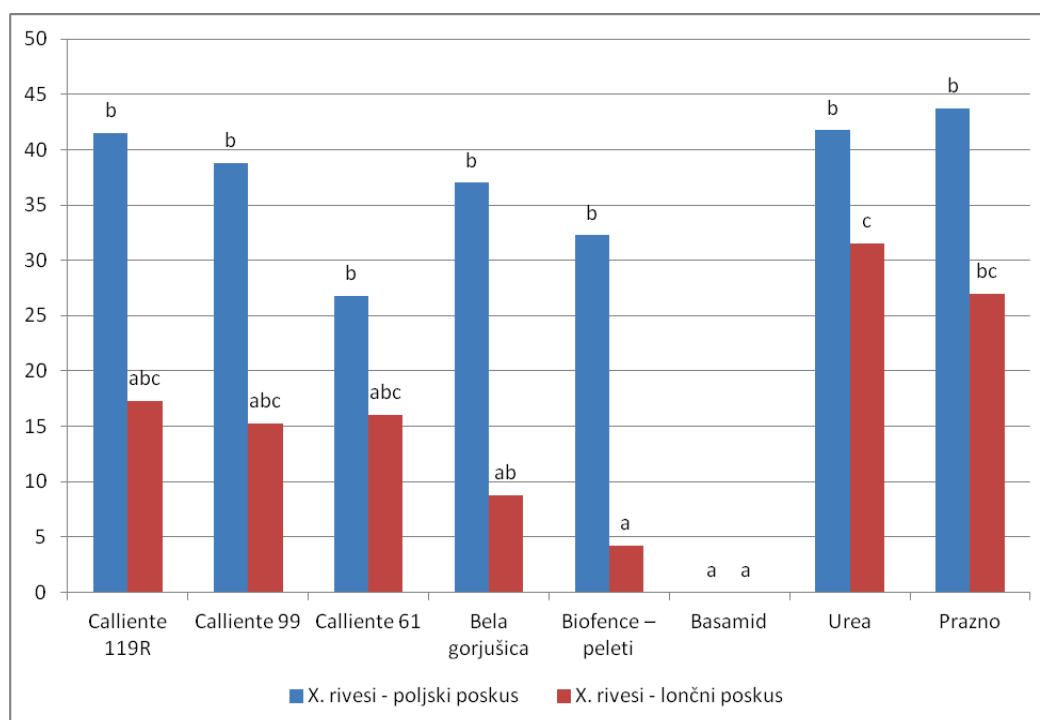


Grafikon 11: Rezultati poljskega poskusa določanja vpliva biofumigacije na bakterijo *Erwinia carotovora* v letu 2012 na IHPS.

Določanje vpliva biofumigacije na ogorčice

V poskusih v letu 2011, kjer smo uporabili ogorčice vrste *M. hapla* smo ugotovili, da je bila izbira vrste ogorčic in priprave sond napačna. Drugostopenjske ličinke vrste *M. hapla* imajo telo v rangi velikosti 7 – 8 µm premer glave in do 450 µm dolžine telesa. Zato je bil material s premerom por 16 µm neustrezen, čeprav v štirih plasteh. Do teh ugotovitev smo prišli pri vrednotenju učinkovitosti biofumigacije, kjer smo ugotovili prazne sonde po končanem postopku tudi v primeru ne-tretiranih kontrolnih postopkih.

V poskusih v letu 2012 z ogorčicami *X. rivesi* smo ugotovili ustrezno število osebkov v kontrolnih postopkih. V lončnih poskusih smo ugotovili 100 odstotno učinkovitost smrtnosti ogorčic v obravnavanju Basamid in določen vpliv biofumigacije na populacijo ogorčic. Najboljše rezultate smo dobili v obravnavanju Biofence – peleti (približno 90 odstotna smrtnost) in Bela gorjušica (približno 80 odstotna smrtnost). Največje preživetje ogorčic je bilo v obravnavanju Urea, medtem ko nismo zaznali statističnih razlik med drugimi obravnavanji. Smrtnost ogorčic je bila v lončnem poskusu nekoliko višja kot v poljskem, kar gre pripisati bolj spremenljivim razmeram (večje nihanje temperature, vlage) v loncih v primerjavi z poljskimi razmerami. V poljskem poskusu smo večjo smrtnost ogorčic (100 %) ugotovili le pri obravnavanju Basamid, ki se je statistično razlikovalo od vseh drugih obravnavanj. Med preostalimi obravnavanji vključno z netretiranim kontrolnim obravnavanjem ni bilo značilnih razlik. Vpliva biofumigacije na ogorčice vrste *X. rivesi* v poljskem poskusu nismo ugotovili (Grafikon 12).

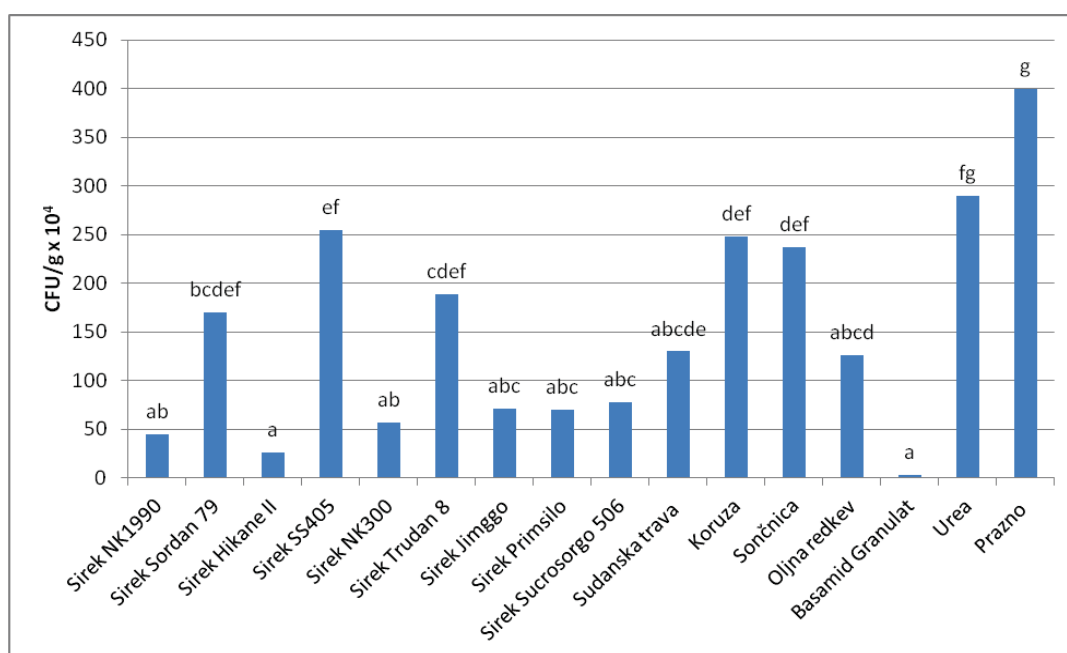


Grafikon 12: Rezultati poljskega in lončnega poskusa določanja vpliva biofumigacije na ogorčici *Xiphinema rivesi* v letu 2012.

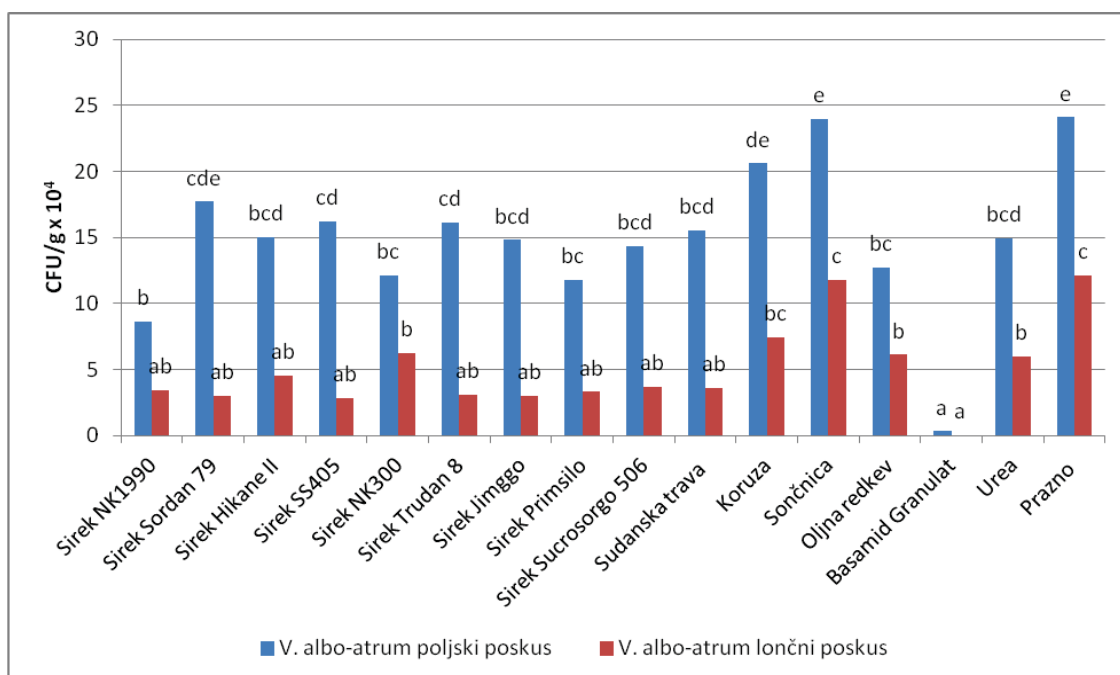
3.4.2 Poskusno polje Gomilsko

Določanje vpliva biofumigacije na glivo *Verticillium albo-atrum*

V letu 2011 smo v okviru poljskega poskusa zaznali statistično značilen padec infekcijskega potenciala glive *V. albo-atrum* pri zaoravanju sirkov Hikane II, NK1990, NK300, Primsillo, Jimggo in Sucrosorgho 506. Dobre rezultate smo dosegli tudi v primeru sudanske trave in oljne redkve, medtem ko so sirek SS405, koruza in sončnica pokazale slabše rezultate, vendar še vedno z negativnim vplivom na glivo *V. albo-atrum*. Uporaba gnojila »urea« ni pokazala značilnega vpliva, medtem ko je kemični pripravek Basamid Granulat dosegel najboljše rezultate. V letu 2012 smo poljski poskus ponovili in hkrati izvedli še lončni poskus. Rezultati poljskega poskusa so ponovno pokazali dobro delovanje sirkov, predvsem NK1990, NK300 in Primsilo, medtem ko pri koruzi in sončnici nismo zaznali razlik v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem (Grafikon 13). Rezultati lončnega poskusa so potrdili dobro delovanje sirkov, vendar med njimi nismo zaznali bistvenih razlik. Ponovno smo slabše rezultate dobili v primeru uporabe koruze in sončnice. Lončni poskus je za razliko od poljskega pokazal statistično značilen negativen vpliv gnojila Urea na glivo *V. albo-atrum* (Grafikon 14).



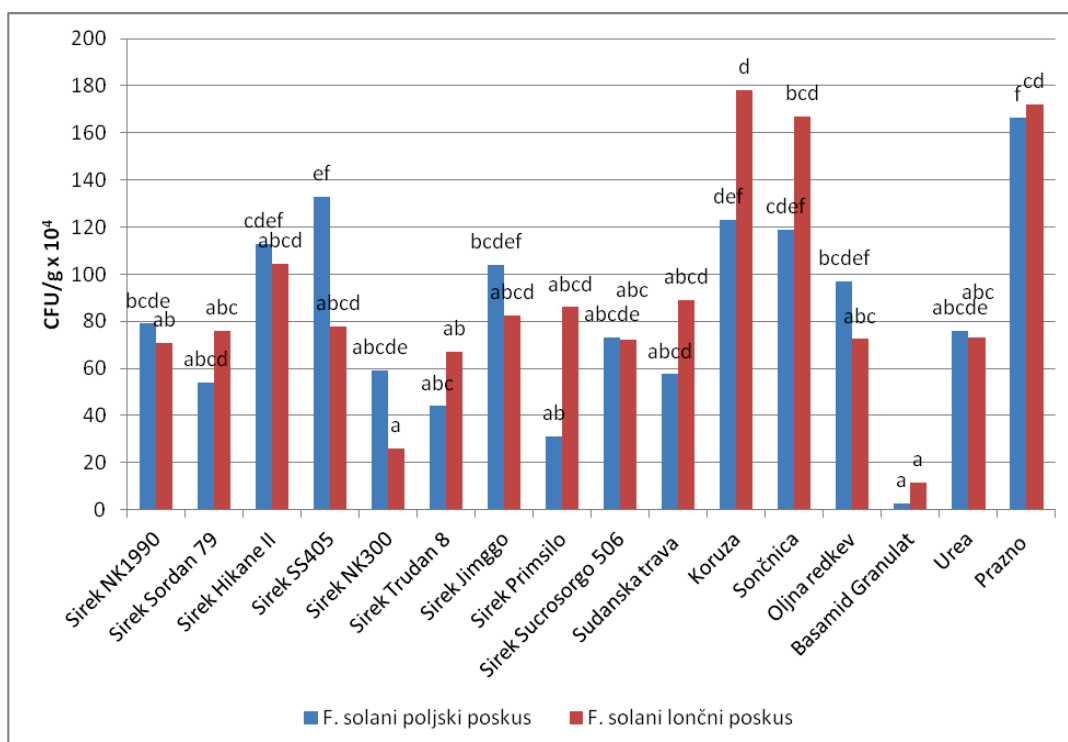
Grafikon 13: Rezultati poljskega poskusa določanja vpliva biofumigacije na glivo *Verticillium albo-atrum* na lokaciji Gomilsko v letu 2011.



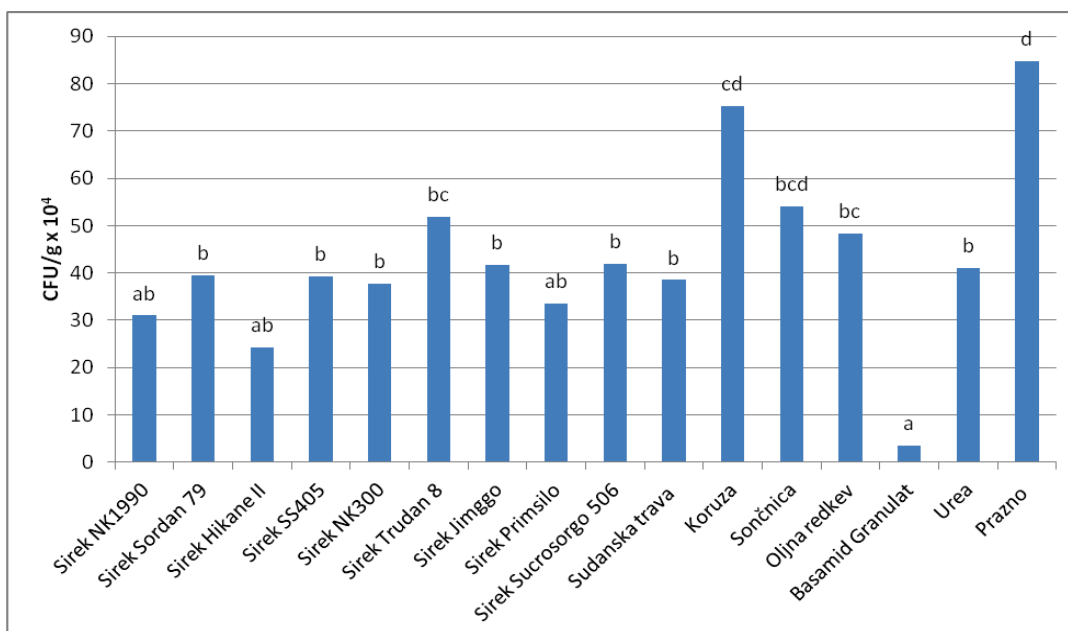
Grafikon 14: Rezultati poljskega in lončnega poskusa določanja vpliva biofumigacije na glivo *Verticillium albo-atrum* na lokaciji Gomilsko v letu 2012.

Določanje vpliva biofumigacije na glivo *Fusarium solani*

Poljski poskus v letu 2011 je pokazal dobro in primerljivo delovanje večine sort sirkov. Slabše delovanje smo ugotovili v primeru sirka SS405 in Hikane II, ter koruze in sončnice pri katerih smo dobili primerljive rezultate kontrolnim površinam. Lončni poskus je potrdil ugotovitve poljskega poskusa, pri čemur so bila posamezna biofumigantna obravnavanja bolj izenačena. Statistično značilne rezultate negativnega vpliva na glivo *F. solani* smo ugotovili tudi v primeru uporabe gnojila Urea (Grafikon 15). Ponovitev poljskega poskusa v letu 2012 je prav tako pokazala vpliv sirkov na nižanje infekcijskega potenciala *F. solani* in potrdila slabše delovanje v primeru koruze in sončnic (Grafikon 16).



Grafikon 15: Rezultati poljskega in lončnega poskusa določanja vpliva biofumigacije na glivo *Fusarium solani* na lokaciji Gomilsko v letu 2011.



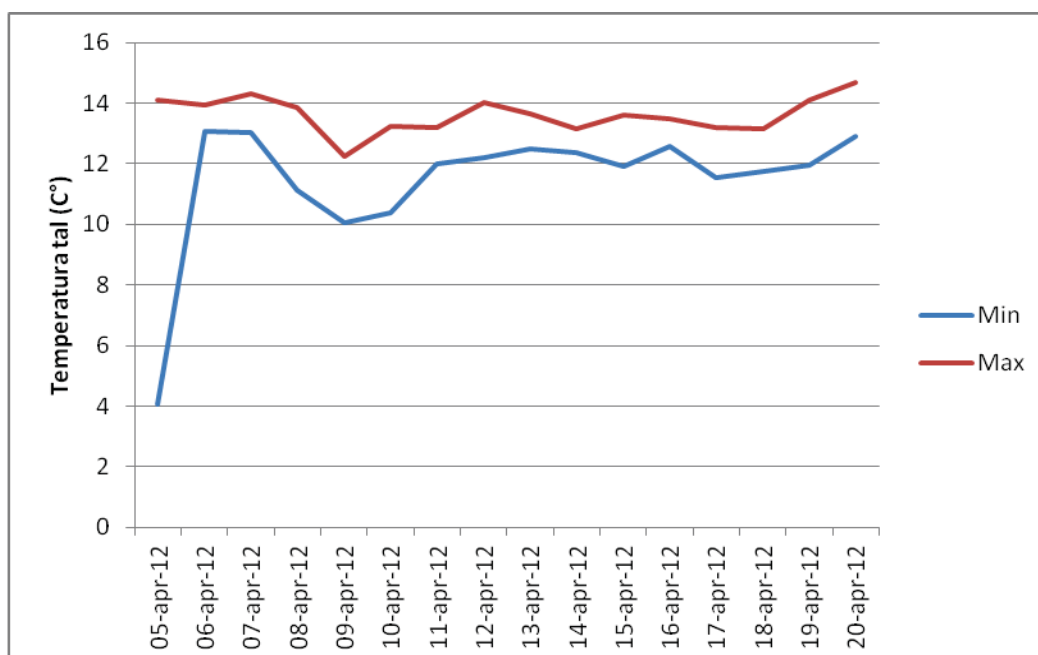
Grafikon 16: Rezultati poljskega poskusa določanja vpliva biofumigacije na glivo *Fusarium solani* na lokaciji Gomilsko v letu 2012.

3.4.3 Rastlinjak

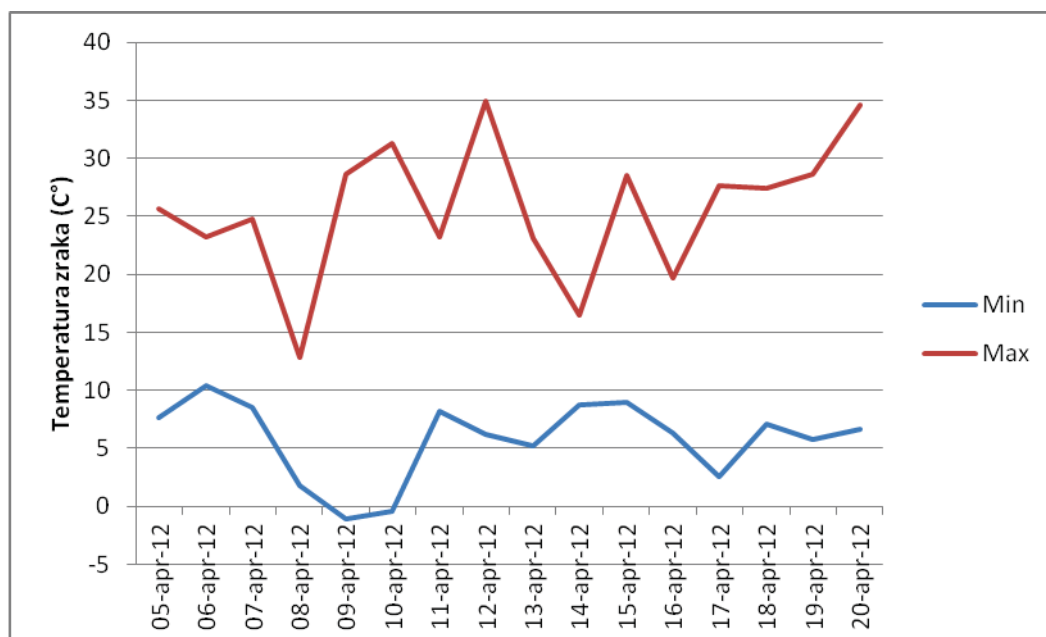
V mesecu marcu 2011 smo postavili prvi poskus testiranja učinkovitosti in odzivov treh biofumigantnih sort rjave gorjušice Caliente 119, 61, 99 v rastlinjaku. Po dvakratni setvi smo v obeh primerih ugotovili zelo slabo rast rastlin in nizko stopnjo vznika ter posledično neprimernost nadaljnega izvajanja postopkov. Analize tal so pokazale, da je na rast rastlin vplivala jesenska aplikacija herbicidov, zato poskusa v rastlinjaku nismo nadaljevali s ponovno setvijo. Zaradi omenjenega vpliva in potrebe po hitrosti postopkov smo razvoj v rastlinjaki usmerili v preizkušanje biofumigantnih peletov »Biofence«, ki so primernejši za aplikacije v rastlinjaki. Ob tem smo v poskus vključili tudi standardno kemično razkuževanje (Basamid granulat), gnojilo Urea, lignin (lesni peleti) in biotičen pripravek na osnovi gliv iz rodu *Trichoderma*; Remedier. Poskus smo izvedli v mesecu aprilu leta 2012 (Slika 9). Velikost parcel je bila 2,5 x 3 m. Pri tem smo v času poskusa s talno sondo Adcon meteorološke postaje spremljali temperaturo tal in zraka v plastenjaku (Grafikon 17,18). V okviru poskusa smo določali vpliv posameznih obravnavanj na glivi *V. dahliae*, *F. solani* in bakterijo *E. carotovora*. Sonde patogenih organizmov so bile vsem postopkom izpostavljene 14 dni.



Slika 9: Preizkušanje učinkovitosti biofumigantnih peletov »Biofence« v plastenjaku v letu 2012 na IHPS.



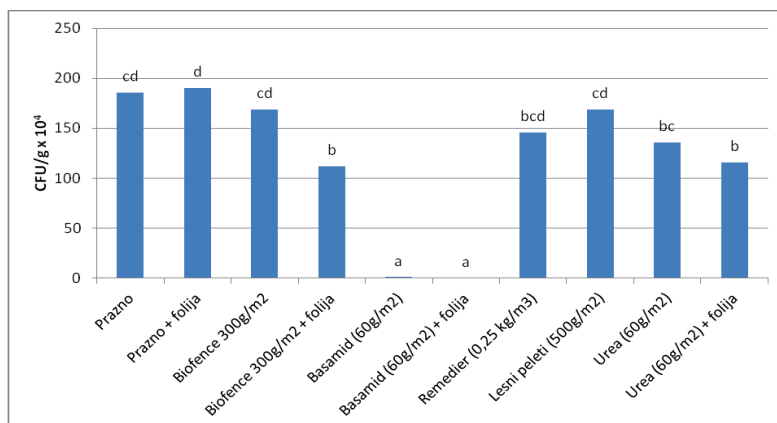
Grafikon 17: Dinamika temperature tal v plastenjaku v času izpostavljenosti sond škodljivih organizmov posameznim postopkom v okviru poskusa v letu 2012 (Vir: Adcon meteorološka postaja IHPS Žalec).



Grafikon 18: Dinamika temperature zraka v plastenjaku v času izpostavljenosti sond škodljivih organizmov posameznim postopkom v okviru poskusa v letu 2012 (Vir: Adcon meteorološka postaja IHPS Žalec).

Uspešnost zatiranja glive *Verticillium dahliae*

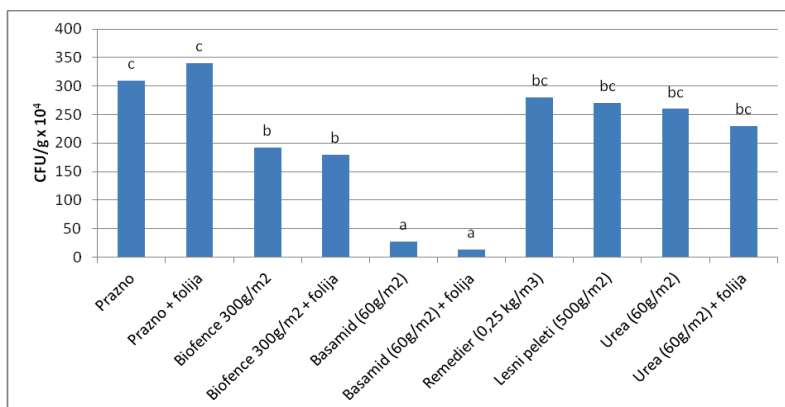
Analize sond so pokazale najvišjo stopnjo učinkovitosti v primeru obravnavanj kemičnega zatiranja s pripravkom Basamid Granulat. Statistično značilen negativen vpliv na glivo *V. dahliae* smo prav tako zaznali v primeru uporabe biofumigantnega pripravka Biofence in gnojila Urea v kombinaciji s prekrivanjem parcel s PVC folijo. Vsa ostala obravnavanja niso pokazala bistvenih razlik z rezultati kontrolnega obravnavanja (Grafikon 19).



Grafikon 19: Rezultati poskusa zatiranja glive *Verticillium dahliae* v rastlinjaku na lokaciji IHPS Žalec v letu 2012.

Uspešnost zatiranja glive *Fusarium solani*

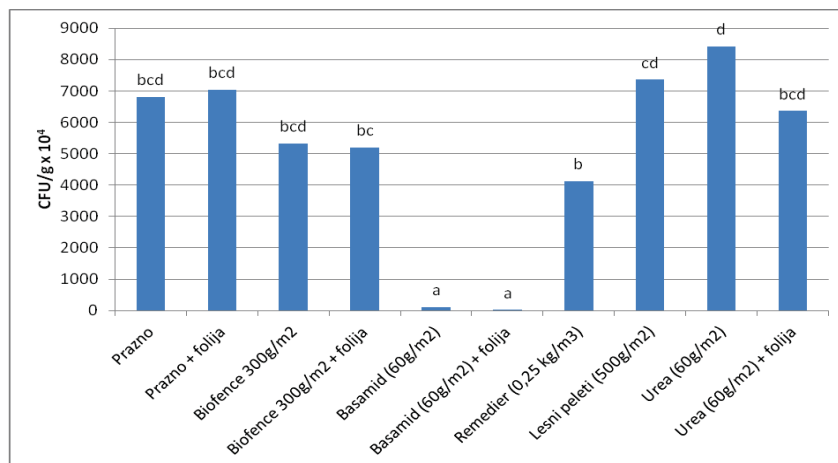
V primeru določanja negativnega vpliva posameznih obravnavanj na glivo *F. solani* je pripravek Biofence pokazal statistično značilno delovanje na omenjeno glivo z in brez prekrivanja tretiranih parcel s PVC folijo. Kemično razkuževanje se je ponovno potrdilo kot najbolj učinkovito, medtem ko ostala obravnavanja niso pokazala statistično negativnega vpliva na *F. solani*.



Grafikon 20: Rezultati poskusa zatiranja glive *Verticillium dahliae* v rastlinjaku na lokaciji IHPS Žalec v letu 2012.

Uspešnost zatiranja bakterije Erwinia carotovora

Preizkušanja zatiranja bakterije *E. carotovora*, razen kemičnega pripravka Basamid Granulat, niso izrazila bistvenega negativnega vpliva na to bakterijo. Delni vpliv smo zaznali v primeru uporabe biotičnega pripravka Remedier (Grafikon 21).



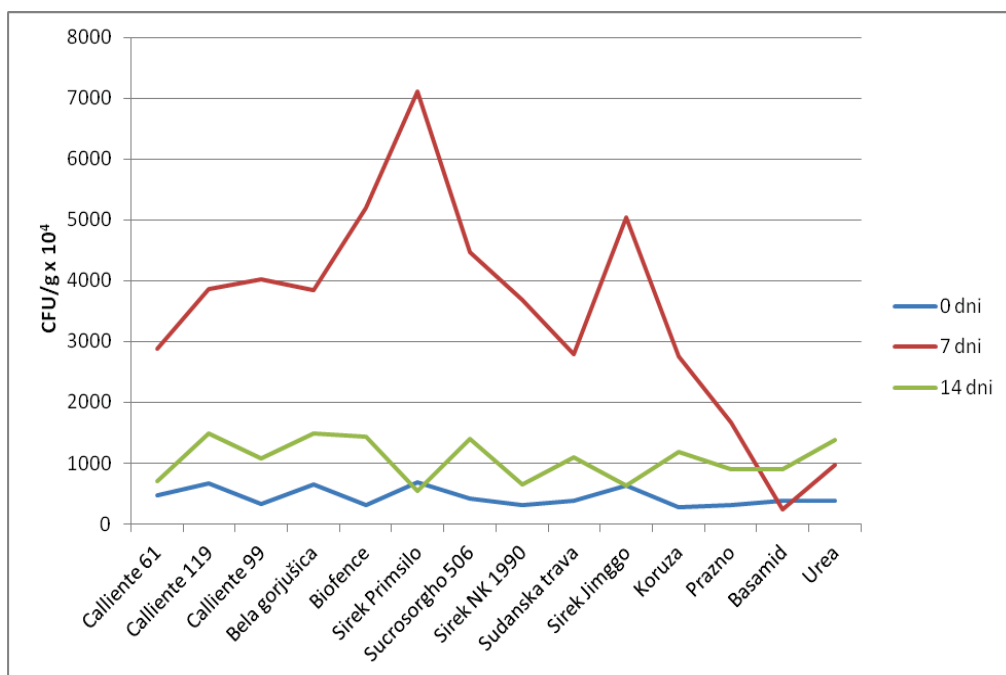
Grafikon 21: Rezultati poskusa zatiranja bakterije *Erwinia carotovora* v rastlinjaku na lokaciji IHPS Žalec v letu 2012.

3.5 Vpliv biofumigacije na mikrobiološko floro tal

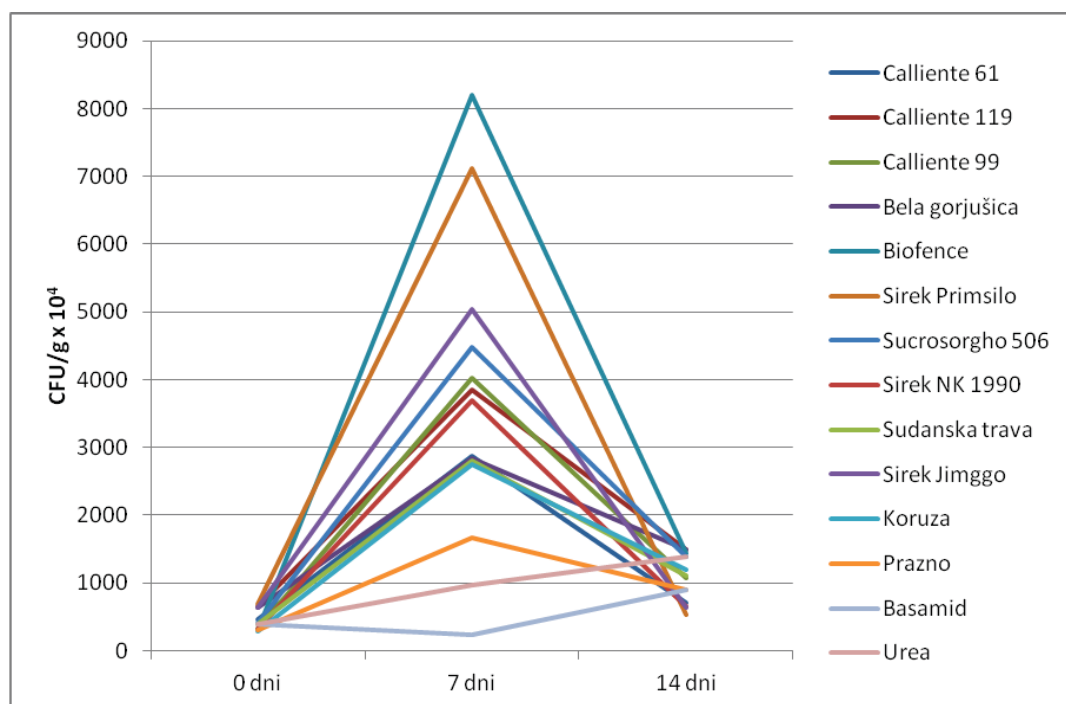
Vpliv biofumigacije in ostalih obravnavanj na mikrobiološko floro tal smo proučevali na poskusnem polju IHPS Žalec v letu 2011. Vpliv smo spremljali na nivoju določanja dinamike splošne populacije gliv in bakterij v treh časovnih intervalih: 1 dan pred biofumigacijo (BI), 7 dni po BI in 14 dni po BI. Vzorce smo analizirali s pomočjo selektivnih gojišč in rezultate izrazili v enotah CFU/g tal.

Bakterije

Časovna točka vzorčenja 7 dni (post BI) je pokazala visok dvig splošne bakterijske populacije pri vseh obravnavanjih zaoravanja rastlinske mase v tla in pri aplikaciji organskega biofumigantnega gnojila Biofence. V primeru uporabe kemičnega pripravka Basamid Granulat se je populacija bakterij znižala, kar kaže na splošno biocidno delovanje tega pripravka. Nizek odziv smo zaznali tudi na pri aplikaciji gnojila Urea in kontrolnem obravnavanju, kjer je blag pozitiven dvig populacije nastal najverjetneje zaradi učinkov obdelave tal. V točki vzorčenja 14 dni (post BI) smo ugotovili, značilen padec bakterijske populacije nazaj v bližino začetnih vrednosti pri vseh biofumigantnih obravnavanjih. V primeru kemičnega pripravka Basamid Granulat, pa se je populacija bakterij obnovila in dvignila na nivo začetnega stanja (Grafikon 22, 23).



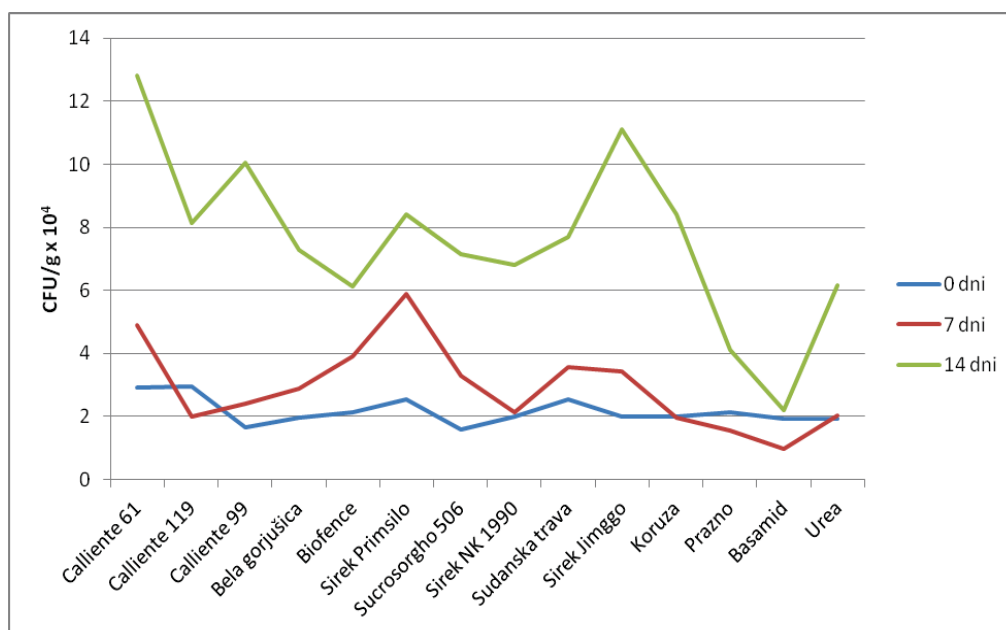
Grafikon 22: Dinamika celokupne populacije bakterij pri posameznem obravnavanju v 3 časovnih točkah na poskusem polju IHPS Žalec v letu 2011.



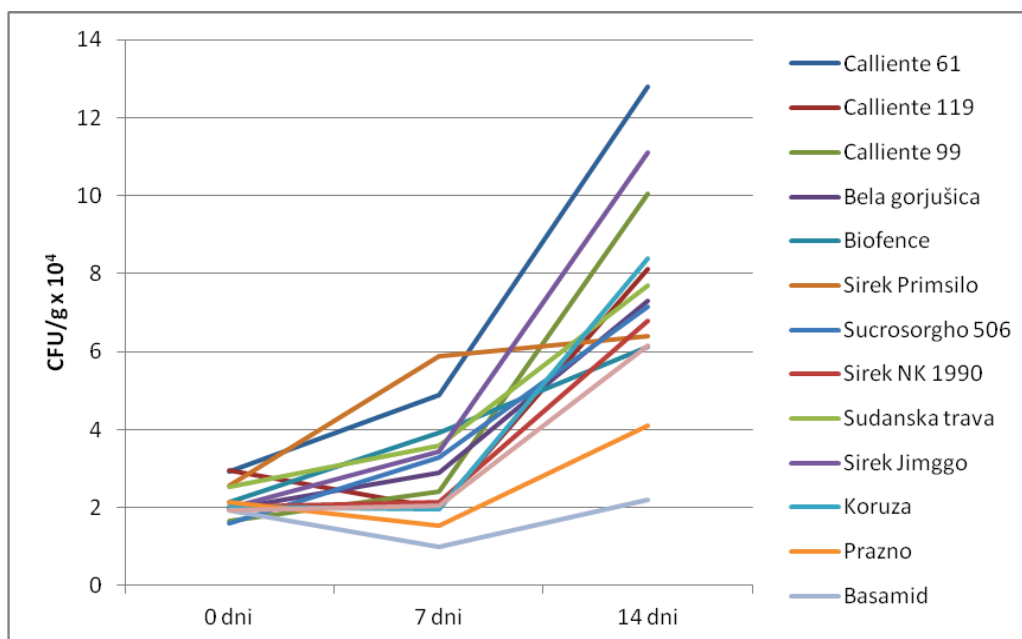
Grafikon 23: Dinamika celokupne populacije bakterij v 3 časovnih intervalih na poskusem polju IHPS Žalec v letu 2011.

Glive

Pri časovni točki vzorčenja 7 dni (post BI) obravnavanja zaoravanja rastlinske mase v tla in aplikacija organskega biofumigantnega gnojila Biofence ni pokazala značilnega dviga celokupne populacije gliv. Podobno kot v primeru bakterijske populacije smo padec zaznali v primeru kemičnega pripravka Basamid Granulat. Značilen dvig populacije gliv smo zaznali šele v točki 14 dni (post BI) pri kateri je prišlo do visokega dviga pri večini biofumigantnih obravnavanj. Prav tako smo dvig zaznali v primeru uporabe gnojila Urea, ki je z dodatnim sproščanjem dušika pospešil razvoj gliv (Grafikon 24, 25). Rezultati so tako v primerjavi z bakterijami pokazali počasnejši odziv populacije gliv, vendar ta odziv v primeru gliv traja dlje in predstavlja pomemben element, ki preko antagonizma in kompeticije negativno vpliva na patogene organizme.



Grafikon 24: Dinamika celokupne populacije gliv pri posameznem obravnavanju v 3 časovnih točkah na poskusem polju IHPS Žalec v letu 2011.



Grafikon 25: Dinamika celokupne populacije gliv v 3 časovnih intervalih na poskusem polju IHPS Žalec v letu 2011.

3.6 Določanje glukozinolatov in cianida v rastlinah in tleh

Z namenom določitve biofumigatnega potenciala rastlin v času pred vnosom v tla smo rastline vzorčili in analizirali na doseženo vsebnost glukozinolatov in cianida. V primeru križnic smo za HPLC analizo izbrali 5 najpogostejše zastopanih glukozinolatov, ki smo jih ločeno merili v koreninah in v steblih. Pri rastlinah iz rodu *Sorghum* smo meritve opravili na vzorcih iz stebela in listov. Vzorcem smo določili vsebnost vlage in jih pred analizami liofilizirali. V primeru poskusnega polja IHPS Žalec smo v letu 2011 določali tudi dinamiko sproščanja izotiocianatov in vodikovega cianida v tleh in sicer 0, 1, 2, 7 in 14 dan po zaoravanju rastlin.

3.6.1 Poskusno polje IHPS Žalec

Glukozinulati

Pri meritvah glikozinulatov smo ugotovili razlike v profilu sort rjave gorjušice (Calliente 61, 119, 99), peletov Biofence in bele gorjušice. Pri rjavi gorjušici smo zaznali sinigrin kot osnovni glukozinulat, ki se nahaja večinoma v steblih in glukonasturtin, ki se v manjši meri nahaja tudi v koreninah. Bistvenih razlik med sortami rjave gorjušice nismo zaznali. V primeru bele gorjušice smo glukozinulate zaznali večinoma v koreninah, pri čemer je prevladoval glukosinalbin. Ostale glukozinulate, razen glukobrasicina smo zasledili v manjši vsebnosti. Zanimivo je, da sinigrina pri beli gorjušici nismo zasledili. Analize peletov Biofence, ki so narejeni iz mletih semen etiopijske gorjušice, so po pričakovanjih pokazale približno 20-krat višje koncentracije glukozinolatov, kot pri rastlinah. Prevladujoča glukozinulata sta sinigrin in glukosinalbin (Preglednica 10).

Preglednica 10: Rezultati vsebnosti glukozinolatov pri križnicah in peletih Biofence v času zaoravanja v tla na poskusnem polju IHPS Žalec v letu 2011.

Obravnavanje	μM/g										Skupaj* μM/g
	Sinigrin		Gluconasturtin		glucotropaeoilin		glucosinalbin		glucobrasicin		
	<i>K</i>	<i>S</i>	<i>K</i>	<i>S</i>	<i>K</i>	<i>S</i>	<i>K</i>	<i>S</i>	<i>K</i>	<i>S</i>	
Calliente 61	/	4,75	0,31	/	/	/	/	/	/	/	4,11
Calliente 119	/	5,27	0,5	/	/	/	/	/	/	/	4,58
Calliente 99	/	5,49	0,35	/	/	/	/	/	/	/	4,76
Bela gorjušica	/	/	0,27	0,2	0,24	0,63	9,23	2,4	2,4	/	4,50
Biofence	69,38		0,11		/		22,61		0,15		92,25

/- ni prisotno ali v sledovih

*Razmerje v teži med korenino in stebлом je 1:7 (ponderirano)

Z upoštevanjem dosežene teže suhe snovi rastlin (ha) in vsebnosti skupnih glukozinulatov v času zaoravanja rastlin smo ugotovili, da imajo peleti Biofence 3-4 krat višji biofumigantni potencial kot rastline. Med rastlinami smo primeljive biofumigantne potenciale ugotovili med sortama rjave gorjušice Calliente 119 in 99 ter belo gorjušico. Pri sorti Calliente 61 smo ugotovili nižje vrednosti biofumigantnega potenciala (Preglednica 11).

Preglednica 11: Biofumigantni potencial križnic in peletov Biofence v času vnosa v tla na poskusnem polju IHPS Žalec v letu 2011.

Obravnavanje	Teža suhe snovi/ha (T)	Povprečna vsebnost glukozinulatov v suhi snovi ($\mu\text{M/g}$)	Biofumigantni potencial (M/ha)
Calliente 61	11,3	4,11	46,4
Calliente 119	14,8	4,58	67,8
Calliente 99	13,9	4,76	66,2
Bela gorjušica	14,5	4,50	65,3
Biofence	2,5	92,25	230,6

Cianid

V primeru meritev cianida pri rastlinah iz rodu *Sorghum* smo potrdili nizko vsebnost pri sudanski travi, medtem ko so sirki, ki smo jih v poskus vključili zaradi višje vrednosti cianida, potrdili visok cianogen potencial. Najvišje vrednosti smo ugotovili pri sirku Primsilo, ki je z upoštevanjem prirasta suhe snovi v času zaoravanja rastlin, dosegel najvišji biofumigantni potencial (Preglednica 12).

Preglednica 12: Biofumigantni potencial sudanske trave in sirkov v času vnosa v tla na poskusnem polju IHPS Žalec v letu 2011.

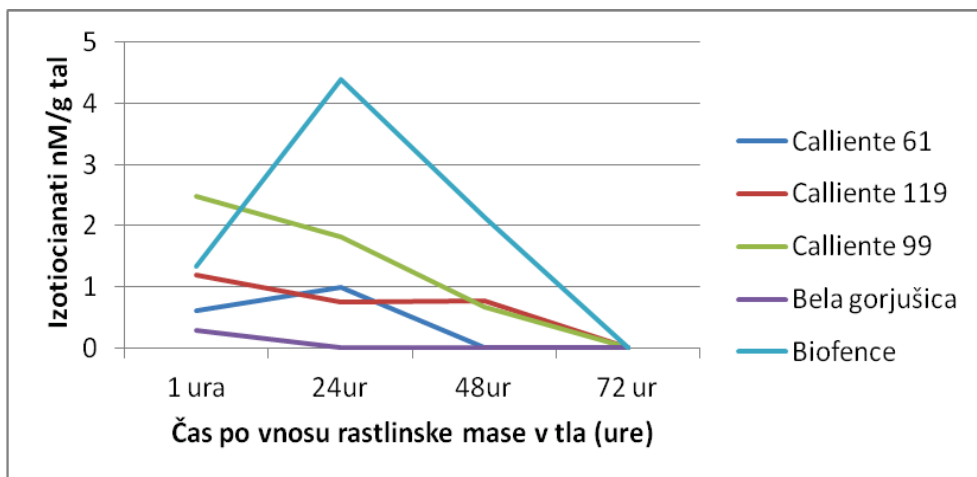
Obravnavanje	Teža suhe snovi/ha (T)*	Povprečna vsebnost CN v suhi snovi (ppm)	Biofumigantni potencial (kg CN/ha)
Sudanska trava	11,4	117,1	1,33
Sirek Sucrosorgo 506	13,0	206,2	2,68
Sirek NK 1990	12,2	175,6	2,14
Sirek Primsilo	12,0	279,0	3,3
Sirek Jimmgo	13,5	209,9	2,8

Dinamika in sproščanje izotiocianatov ter vodikovega cianida v tleh

Mulčenje rastlin povzroči takojšnje sproščanje izotiocianatov ter vodikovega cianida, zato je pomembno, da ostanke rastlin nemudoma zadelamo v tla. V nasprotnem primeru prihaja do velikih izgub omenjenih plinov in slabšega izkoristka fumigantnega potenciala rastlin. Pomemben fumigantni del se odvija v prvi fazi, ki traja maksimalno do 3 dni. V našem primeru smo v tleh izotiocianat zaznavali do 48 ur po zaoravanju rastlinske mase (Preglednica 13: Grafikon 26), medtem ko smo vodikov cianid zaznali le v točki neposredno po zaoravanju.

Preglednica 13: Dinamika izotiociantov v tleh po zaoravanju križnic in peletov Biofence na poskusnem polju IHPS Žalec v letu 2011.

Obravnavanje	Izotiocianat (nmol/g tal)			
	1 ura	24ur	48ur	72 ur
Calliente 61	0,62	1,00	0	0
Calliente 119	1,2	0,75	0,77	0
Calliente 99	2,48	1,81	0,67	0
Bela gorjušica	0,3	0	0	0
Biofence	1,33	4,40	2,13	0



Grafikon 26: Dinamika izotiociantov v tleh po zaoravanju križnic in peletov Biofence na poskusnem polju IHPS Žalec v letu 2011.

3.6.2 Poskusno polje Gomilsko

Cianid

Meritve vsebnosti cianida v sirkih in sudanski travi so razdelili rastline v dve skupini. Visoko vsebnost smo potrdili v primeru sirkov NK 1990, Sucrosorgho 506, Primsilo in Jimmgo. Vse ostale sorte sirkov in sudanske trave so imele najmanj 50% nižje vrednosti. Z upoštevanjem dosežene suhe snovi smo tako najvišje fumigantne potenciale potrdili v skupini sirkov z visokimi vrednostmi cianida (Preglednica 14).

Preglednica 14: Biofumigantni potencial sudanske trave in sirkov v času vnosa v tla na poskusnem polju Gomilsko v letu 2011.

Obravnavanje	Teža suhe snovi/ha (T)	Povprečna vsebnost CN v suhi snovi (ppm)	Biofumigantni potencial (kg CN/ha)
Sirek NK1990	24,5	171,8	4,12
Sirek Sordan 79	25,1	80,2	2,01
Sirek Hikane II	28,1	81,9	2,3
Sirek SS405	17,6	82,6	1,45
Sirek NK300	21,9	80,2	1,76
Sirek Trudan 8	18,2	75,4	1,37
Sirek Jimmgo	22,2	145,5	3,23
Sirek Primsilo	29,3	192,9	5,65
Sirek Sucrosorgo 506	25,1	202,8	5,1
Sudanska trava	26,3	83,1	2,18

3.7 Diseminacija rezultatov

Rezultati projekta so do sedaj bili predstavljeni v okviru tehnoloških predavanj uporabnikov in predavateljev fitomedicine, pridelovalcem na tehnoloških sestankih hmeljarjev ter na dveh mednarodnih konferencah:

- 2. znanstvena konferenca z mednarodno udeležbo; Konferenca VIVUS - s področja kmetijstva, naravovarstva, hortikulture in živilstva »ZNANJE IN IZKUŠNJE ZA NOVE PODJETNIŠKE PRILOŽNOSTI«
24. in 25. april 2012; Biotehniški center Naklo, Strahinj 99, Naklo, Slovenija
- 10th Conference of the European Foundation for Plant Pathology (EFPP) in Wageningen, 1-6.10.2012 "IPM 2.0 – Towards future-proof crop protection in Europe".

V pripravi je tudi tehnološki informativni letak za pridelovalce, kjer bodo predstavljene in zbrane osnovne informacije o uporabi biofumigacije.

4 SKLEPI

- Pri uporabi biofumigacije kot alternativne tehnologije za zatiranje talnih škodljivih organizmov je trenutno najbolj razširjena uporaba različnih sort rjave gorjušice (*Brassica juncea*) in bele gorjušice (*Sinapis alba*), ki vsebujejo visoko vsebnost glukozinulatov in zagotavljajo visok vnos zelen mase v tla (50-100t zelene mase/ha). Uporaba rastlin iz rodu *Sorghum* se za namene biofumigacije komercialno ne trži v obliki posebnih biofumigantnih sort, ampak lahko podatke o tem zasledimo le na nivoju raziskovalnih in strokovnih objav. Na trgu so prav tako dostopni tudi biofumigantni produkti v obliki peletov in izvlečkov križnic, ki so večinoma registrirani kot gnojila z dodano biofumigantno vrednostjo. Biofumigacija se večinoma v svetu uporablja pri ekološki pridelavi vrtnin, jagod in krompirja, vedno večji poudarek pa pridobiva pri pripravi tal trajnih nasadov (sadovnjaki, vinogradi), pri katerih po večletnem gojenju prihaja do neugodne mikrobiološke flore in razmnožitev talnih patogenih organizmov.
- Spremljanje rastnih dejavnikov, ki smo jih opravili v okviru 2 dvoletnih poljskih poskusov so pokazali, da sorte rjave in bele gorjušice preidejo v fazo polnega cvetenja v 2 mesecih od setve in ob pravilni oskrbi dosežejo več kot 60 ton zelene mase/ha, kar pomeni približno 10 ton suhe snovi/ha. V primeru slabših pogojev kot je npr. suša in toplotni udari se biomasa občutno zmanjša (70-80%), kar kaže na občutljivost teh rastlin na tovrstne razmere. V primeru sirkov in sudanske trave rastline v času 2 mesecev dosežejo primerljivo biomaso kot križnice, vendar ob možnosti podaljšanja rastne dobe za 1-2 tedna lahko močno pridobimo na biomasi in dosežemo vrednosti 20-30 ton suhe snovi/ha, kar v primeru križnic ni mogoče. V primeru neugodnih pogojev sirki in sudanske trave prav tako zgubljajo na biomasi (30-50%), vendar kljub temu ne kažejo tako visoke občutljivosti kot križnice in lahko dosežejo vrednosti 5-10 ton suhe snovi/ha. Pri oskrbi rastlin je potrebno izpostaviti, da je poleg gnojenja in preprečevanja plevelov, pri križnicah nujno izvesti 1-2 škropljenja z insekticidi z namenom preprečevanja kapusovega bolhača (*Phyllotreta undulata*), ki lahko močno ogrozi rastline predvsem v začetnih razvojnih fazah.
- Primerjava učinkovitosti križnic, rastlin iz rodu *Sorghum* in standardnih obravnavanj na poskusnem polju IHPS Žalec, je pokazala negativen vpliv večine sirkov, sudanske trave in rjave gorjušice sorta Calliente 199 na glivo *Verticillium dahliae* v obsegu med 40-60%. Pripravek Biofence in gnojilo Urea sta pokazala variabilen učinek med poskusi, pri čemer smo izrazit negativen učinek (40-50%) zaznali le na nivoju lončnega poskusa. V primeru uporabe kemičnega pripravka Basamid Granulat smo v vseh poskusih dosegli najvišje učinkovitosti (80-100%). Rezultati tako kažejo na trend uporabe sirkov in sudanske trave za zatiranje te glive, vendar v več-ih zaporednih postopkih, da se lahko približamo učinkovitosti 1-kratne uporabe kemičnih fumigantov.

- V primeru glive *Verticillium albo-atrum* smo na poskusnem polju Gomilsko proučevali vpliv biofumigacije na nivoju sirkov/sudanske trave in oljne redkve. Analize so pokazale konstantno in dobro delovanje večine sirkov, ne glede na vsebnost cianida v tkivu. Padec infekcijskega potenciala se je gibal med 30-70%. Slabše delovanje smo zaznali v primeru zaoravanja koruze in sončnic. Na nivoju lončnega poskusa smo zaznali dobro delovanje gnojila Urea, medtem ko je kemični pripravek Basudin Granulat po pričakovanjih dosegel najvišje učinkovitosti (90-100%). Podobno kot pri *V. dahliae* lahko zaključimo, da je smiselno nadaljevati delo v smeri sirkov s pričakovanjem nižanja infekcijskega potenciala z več zaporednimi postopki, ki se lahko vpeljujejo v kolobar (strniščna setev) ali pa kot vmesni posevki.
- Analize vpliva obravnavanj na glivo *Fusarium solani* so v primeru poskusa na IHPS Žalec pokazale zelo variabilne rezultate. V letu 2011 smo negativni učinek v okviru poljskega in lončnega poskusa zaznali le v primeru rjave gorjušice Calliente 61 in pripravka Biofence. Ostala biofumigantna obravnavanja so pokazala dobro delovanje le na nivoju lončnega poskusa ali pa je prišlo do izključevanja rezultatov na nivoju poljskega in lončnega poskusa. Ponovljen poljski poskus v letu 2012 je izrazil negativen vpliv vseh biofumigantnih obravnavanj na glivo *F. solani*, med katerimi smo ponovno najboljše rezultate dosegli v primeru rjave gorjušice Calliente 61 in Calliente 119, ter sudanske trave. Rezultati poskusa na Gomilskem so pokazali trend negativnega vpliva sirkov na nižanje infekcijskega potenciala *F. solani* in slabo ali celo stimulatивно delovanje v primeru koruze in sončnic. Kemično zatiranje se je v vseh primerih izkazalo za najbolj učinkovito in neprimerljivo boljše od biofumigacije. Na osnovi rezultatov lahko zaključimo, da je za nižanje infekcijskega potenciala glive *F. solani* dobro uporabili vse biofumigantne rastline s poudarkom na sortah rjave gorjušice, vendar lahko pričakujemo zelo ne-konstantne rezultate z učinkovitostjo do 50%. Izogibati se je potrebno uporabi koruze in sončnic, ki lahko potencial te glive celo povečata.
- Proučevanja vpliva biofumigacije na bakterijo *Erwinia carotovora* so pokazala slabo delovanje večine obravnavanj. Blag negativni učinek smo zaznali le pri križnicah in pripravku Biofence, ki pa glede na obseg nima bistvenega pomena. Na osnovi teh rezultatov lahko zaključimo, da je za zatiranje te bakterije potrebno izvesti kemično tretiranje ali pa izvesti večletno kolobarjenje z negostitelskimi rastlinami. Zeleni podor lahko pripomore k krajšanju kolobarja, vendar je potrebno opraviti še več poskusov z različnimi rastlinami, da ne spodbudimo naraščanja populacije. Poskuse na tem področju je smiselno nadaljevati še v smeri »biološke talne disinfestacije (BSD)«, solarizacije in biotičnega zatiranja.
- Vpliv biofumigacije na ogorčice smo v prvi fazi vrednotili na ogorčici *Meloidogyne hapla*, vendar smo ob izkopu sond ugotovili nepravilno izbiro materiala sond, zato poskusa ni bilo možno ovrednoti. Poskus smo nadaljevali v letu 2012 z novimi optimiziranimi sondami in ogorčico *Xyphinema rivesi*, pri čemur smo se osredotočili na biofumigacijo na osnovi glukozinulatov. V lončnih

poskusih smo ugotovili 100 odstotno učinkovitost smrtnosti ogorčic pri obravnavanju Basamid Granulat in vpliv biofumigacije na populacijo ogorčic pri obravnavanju Biofence – peleti (približno 90 odstotna smrtnost) ter beli gorjušici (približno 80 odstotna smrtnost). Največje preživetje ogorčic je bilo v obravnavanju Urea, medtem ko nismo zaznali statističnih razlik med drugimi obravnavanji. V primeru poljskega poskusa vpliva biofumigacije na ogorčice vrste *X. rivesi* nismo ugotovili.

- Poskusi v rastlinjaku so v našem primeru pokazali večjo primernost uporabe biofumigantnih peletov kot setev rastlin, saj so le te lahko občutljive na morebitna neprimerna tla ali ostanke kemičnih sredstev. Prav tako je v primeru rastlinjakov pomembna hitrost izvedbe posameznih postopkov, ki naj bi bili po času trajanja primerljivi kemičnem zatiranju. Setev biofumigantnih rastlin je bolj smiselna v primeru večjih pokritih površin, kjer se lahko vključijo v kolobar. Uporaba biofumigantnega pripravka Biofence je ob prekrivanju površine s folijo v našem poskusu pokazala učinkovitost nižanja potenciala glive *V. dahliae* in *F. solani*, vendar le v obsegu do 50%, kar je neprimerljivo s kemičnim pripravkom Basamid granulat (100% učinkovitost). Učinkov peletov Biofence na bakterijo *E. carotovora* nismo zaznali. V primeru uporabe gnojila Urea skupaj s prekrivanjem s folijo smo ugotovili negativen učinek na *V. dahliae*, vendar ponovno do 50%. Ostala obravnavanja niso pokazala negativnega vpliva na omenjene organizme. Rezultati tako kažejo na uporabnost biofumigantnih peletov Biofence v rastlinjaki za zatiranje gliv iz rodu *Fusarium* in *Verticillium*, vendar lahko značilne učinke pričakujemo ob večkratni in stalni uporabi tega pripravka.
- Vnos biomase v tla in sami agrotehnični postopki predstavljajo velik poseg v talno mikrofloro. Ustrezno mikrobiološko ravnovesje je za optimalen razvoj rastlin izrednega pomena, zato smo v letu 2011 opravili meritve dinamike bakterijske in splošne populacije gliv v tleh v času 0, 7 in 14 dni po aktivni fazi posameznih obravnavanj. Analize so pokazale izrazit dvig bakterijske populacije v točki 7 dni (post BI) pri vseh obravnavanjih zaoravanja rastlinske mase v tla in pri aplikaciji organskega biofumigantnega gnojila Biofence. V primeru uporabe kemičnega pripravka Basamid Granulat se je populacija bakterij znižala, kar kaže na splošno biocidno delovanje tega pripravka. Nizek odziv smo zaznali tudi na pri aplikaciji gnojila Urea in kontrolnem obravnavanju, kjer je blag pozitiven dvig populacije nastal najverjetneje zaradi učinkov obdelave tal. V točki vzorčenja 14 dni (post BI) smo ugotovili, značilen padec bakterijske populacije nazaj v bližino začetnih vrednosti pri vseh biofumigantnih obravnavanjih. V primeru kemičnega pripravka Basamid Granulat, pa se je populacija bakterij obnovila in dvignila na nivo začetnega stanja. V primeru gliv smo značilen dvig populacije gliv zaznali šele v točki 14 dni (post BI), kjer je prišlo do visokega dviga pri večini biofumigantnih obravnavanj. Prav tako smo dvig zaznali v primeru uporabe gnojila Urea, ki je z dodatnim sproščanjem dušika pospešil razvoj gliv. Rezultati so tako pokazali hiter in kratek odziv bakterij in počasnejši, ter daljši vpliv populacije gliv, vendar oba elementa predstavljata pomembna faktorja, ki preko

antagonizma, kompeticije in parazitizma negativno vplivata na patogene organizme.

- Analize biofumigantnega potenciala posameznih rastlin v času vnosa v tla so pokazale primerljivo skupno vsebnost glukozinulatov med sortami rjave gorjušice in bele gorjušice. Bistvene razlike so se pokazale na profilu in vsebnosti v posameznem tkivu. V primeru rjavih gorjušic je prevladoval glukozinulat sinigrin in sicer večinoma na nadzemnem delu rastlin, medtem ko se pri beli gorjušici glukozinulati večinoma nahajajo v koreninah s prevladovanjem glukosinalbina. Zanimivo je, da sinigrina pri beli gorjušici nismo zasledili. Analize peletov Biofence, ki so narejeni iz mletih semen etiopijske gorjušice, so po pričakovanjih pokazale približno 20-krat višje koncentracije glukozinulatov, kot pri rastlinah, pri čemer sta prevladujoča glukozinulata sinigrin in glukosinalbin. Z upoštevanjem dosežene teže suhe snovi rastlin (ha) in vsebnosti skupnih glukozinulatov v času zaoravanja rastlin smo ugotovili, da imajo peleti Biofence 3-4 krat višji biofumigantni potencial kot rastline. Med rastlinami smo primerljive biofumigantne potenciale ugotovili med sortama rjave gorjušice Calliente 119 in 99 ter belo gorjušico. Pri sorti Calliente 61 smo ugotovili nižje vrednosti biofumigantnega potenciala. Meritve vsebnosti cianida v sirkih in sudanski travi so razdelili rastline v dve skupini. Visoko vsebnost smo potrdili v primeru sirkov NK 1990, Sucrosorgho 506, Primsilo in Jimmgo. Vse ostale sorte sirkov in sudanske trave so imele najmanj 50% nižje vrednosti. Z upoštevanjem dosežene suhe snovi smo tako najvišje fumigantne potenciale potrdili v skupini sirkov z visokimi vrednostmi cianida. Neposredne povezave vsebnosti glukozinulatov in cianida na učinkovitost zatiranja patogenih organizmov nismo zaznali.
- Pri analizi fumigantov v tleh smo v našem poskusu izotiocianat zaznavali do 48 ur po zaoravanju rastlinske mase, medtem ko smo vodikov cianid zaznali le v točki neposredno po zaoravanju. To potrjuje predhodne raziskave, da se najpomembnejši fumigantni del odvija v prvi fazi, ki traja dni 3-5 dni. Prav tako je znano, da mulčenje rastlin povzroči takojšnje sproščanje izotiocianatov ter vodikovega cianida, zato je pomembno, da ostanke rastlin nemudoma zadelamo v tla. V nasprotnem primeru prihaja do velikih izgub omenjenih plinov in slabšega izkoristka fumigantnega potenciala rastlin.

5 ZAKLJUČKI IN PRIHODNJE USMERITVE

Poskusi v okviru projekta so pokazali, da je biofumigacija lahko alternativna tehnologija kemičnem zatiranju določenih talnih patogenov, vendar se enkratna aplikacija biofumigacije po učinkovitosti ne more primerjati s kemičnimi fumiganti. Prav tako koncentracije naravnih fumigantov (vodikov cianid in izotiocianti), ki nastajajo ob razgradnji trenutno dostopnih biofumigantnih rastlin in produktov ne dosegajo vrednosti kemičnih fumigantov. Glede na dosežene učinkovitosti je potrebno biofumigacijo v pridelavo vpeljati kot stalen ukrep, ki se lahko izvaja kot vmesni posevek (trajni nasadi) ali pa kot posevek pred in ob koncu gojenja določenih rastlin. Pomembno je izpostaviti, da poleg izhajanja toksičnih fumigantov v prvi fazi biofumigacije, pomemben del preprečevanja patogenov temelji na spremenjeni in povečani aktivnosti talne mikrobiološke flore. Ta lahko preko antagonizma, kompeticije in parazitizma vpliva na zmanjšanje infekcijskega potenciala določenih patogenov ali pa kljub ne bistvenem padcu infekcijskega potenciala vpliva na preprečevanje nastanka okužb. Poznavanje tega lahko pripomore pravilni poziciji biofumigacije v kolobarju določene rastline. Znano je tudi, da na aktivnost in profil talne mikroflore vpliva vrsta rastlinskih ostankov, kar ima za posledico različen vpliv na tarčni organizem. Prav tako je potrebno določiti ali ni biofumigatna rastlina morebiti potencialni gostitelj tarčnega patogena. Tako je uspešnost biofumigacije primarno odvisna od prilagojenih modelov, ki zajemajo tarčni organizem, pravilno biofumigantno rastlino/produkt in postopek izvajanja, ki je prilagojen določeni rastlinski proizvodnji. Poleg učinka na patogene organizme je potrebno biofumigacijo obravnavati tudi v smeri izboljšanja strukture tal, vnosa organske snovi, hitrejše remediacije določenih pesticidov ter potencialnega vpliva na nastanek ali vzdrževanje »odpornosti tal« na določene patogene.

Načrti za prihodnjo kmetijsko pridelavo so v EU usmerjeni v »proizvesti več in kakovostnejše« z manj kemičnimi posegi. To je mogoče le z vpeljavo in razvojem integriranih pristopov, kjer na področju talnih patogenov poleg parnega razkuževanja, in novih biotičnih pripravkov, biofumigacija skupaj s tehnikami »biološke talne disinfestacije« predstavlja pomembno vlogo. V prihodnje se je potrebno usmeriti k sistematičnem razvoju biofumigantnih modelov in jih preko večletnih poskusov vpeljati v prakso in približati pridelovalcem.

6 VIRI IN RELEVANTNA LITERATURA

- Agrios G. N., 1997. Plant Pathology. 4th edi. San Diego, Academic press. 635 str.
- Bello A., 2008. Soil biodisinfection for the management of soil-borne pathogens and weeds. International Biofumigation Symposium, Canberra, Australia 21.-25. 7. 2008
- Biofumigation 2008. Third International Biofumigation Symposium, Program and abstracts CSIRO Discovery Centre, Canberra, Australia, 21-25 July 2008
http://agwest.sk.ca/events/biofumigation2011/AWBBiofumigationWorkbook_web.pdf
- Biofumigation 2011. Biofumigation and biopesticides symposium 2011, Program and abstracts, Saskatoon, Saskatchewan, Canada, 18-21 October, 2011
http://agwest.sk.ca/events/biofumigation2011/AWBBiofumigationWorkbook_web.pdf

- Blok W.J., Lamers J.G. Termorshuisen A.J., Bollen G.J. 2000. Control of soilborne plant pathogen by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. *Phytopathology* 90: 253-259.
- Brown P.D. Morra M.J. 1997. Control of soil-borne plant pests using glukosinolate-conining plants. V: *Advances in Agronomy*, VI 61. Sparks D.L. (ed), Academic Press, New York
- Gies D., 2008. Development and utilization of mustard cover crops in the USA. Third International Biofumigation Symposium, Canberra, Australia 21.-25. 7. 2008.
- Mancini L.M., Lazzeri L., Palmeri S., 1997. In vitro fungitoxic activity of some glucosinulates and their enzymes derived products toward plant pathogenic fungi. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 45: 2768-2773.
- Mayton H.S., Oliver C., Vaughn S.F, Loria R., 1996. Correlation of fungicidal activity of Brassica species with allylthiocynate production in macerated leaf tissue. *Phytopathology* 86: 267-271
- Nehl D., 2008. Utilising green manures in irrigated agriculture – brassicas vs. other options. International Biofumigation Symposium, Canberra, Australia 21.-25. 7. 2008.
- Nielsen J.S, Moller B.L, 1999. "Biosynthesis of cyanogenic glucosides in *Triglochin maritima* and the involvement of cytochrome P450 enzymes". *Arch. Biochem. Biophys.* 368: 121–130.
- Njoroge S.M.C., Riley M.B., Keinath A.P. 2008. Effect of incorporation of Brassica spp. Residues on population densities of soilborne microorganisms and on damping off and Fusarium wilt of watermelon. *Plant Disease* 92: 287-294.
- Nyczepir A.P., Bertrand P.F., Cunfer B.M., 1996. Suitability of wheat sorghum double crop rotation to manage *Criconebella xenoplax* in peach production. *Plant Disease* 80: 629-632
- Nyczepir A.P., Rodrigues Kabana R., 2007. Preplant biofumigation with sorghum or methyl bromide compared for managing *Criconeboides xenoplax* in young peach orchard. *Plant Disease* 91: 1607-1611.
- Radišek S., Čeh., Javornik B., 2010. Uporaba bioloških metod deinfestacije tal pri preprečevanju verticilijske uvelosti hmelja. V: RAK CIZEJ, Magda (ur.), ČEH, Barbara (ur.). *Zbornik seminarja. Žalec*: Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije: 2010, str. 66-71.
- Rowe R.C, Riedel R.M., 1984. Synergistic interactions between *Verticillium dahliae* and *Pratylenchus* species in potato early dying disease. *Phytopathology* 74: 845
- Sarwar M., Kirkegaard J.A., Wong P.T.W., Desmarchelier J.M., 1998. Biofumigation potential of brassicas. III. IN vitro toxicity of isothiocyanates to soil borne fungal pathogens. *Plant Soil* 201: 103-112
- Shetty K.G., Subbarao K.V., Huisman O.C., Hubbard J.C. 2000. Mechanism of broccoli mediated *Verticillium* wilt reduction in cauliflower. *Phytopathology* 90: 305-310
- Smolinska U., 2000. Survival of *Sclerotium cepivorum* sclerotia and *Fusarium oxysporum* chlamydospores in soil amended with cruciferous residues. *Journal of Phytopathology* 148: 343-349.
- Smolinska U., Morra M.J, Knudsen G.R., James R.L., 2003. Isothiocyanates produced by brassicaceae species as inhibitors of *Fusarium oxysporum*. *Plant Disease* 87: 407-412
- Subbarao K.V., Hubbard J.C. 1999. Evaluation of Broccoli Residue Incorporation into Field Soil for *Verticillium* wilt Control in Cauliflower. *Plant Disease* 83: 124-129

- Viaene N.M., Abawi G.S., 1998. Management of *Meloidogyne hapla* on lettuce in organic soil with Sudan grass as cover crop. *Plant Disease* 82: 945-952
- Widemer T.L., Abawi G.S., 2000. Mechanism of suppression of *Meloidogyne hapla* and its damage by green manure of Sudan grass. *Plant Disease* 84: 562-568.
- Wiggins E.B., Kinkel L.L. 2005. Green manures and crop sequences influence alfalfa root rot and pathogen inhibitory activity among soil-borne *steptomycetes*. *Plant and Soil*, 268: 271-283.
- Urek G., Hržič A., Ogorčice-nevidni zajedavci rastlin, Ljubljana, Matformat, 1998