

SPREMLJANJE KOSTANJEVEGA LISTNEGA ZAVRTAČA (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimić) IN NJEGOVIH NARAVNIH SOVRAŽNIKOV

Katja KOŠIR¹, Lea MILEVOJ²

^{1,2}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, travništvo in pašništvo, Ljubljana

IZVLEČEK

Spremljali smo izletavanje metuljčkov kostanjevega listnega zavrtača (*Cameraria ohridella* /Deschka & Dimić/) s feromonskimi vabami in zastopanost njegovih naravnih sovražnikov v listnih izvrtinah navadnega divjega kostanja, na območju Ljubljane. Rezultati potrjujejo, da razvije žuželka tri rodove na leto. Metuljčki izletavajo od konca aprila do konca septembra. Njihova številčnost je odvisna tudi od vremenskih razmer. Parazitiranost ličink je majhna. Našli smo tri parazitoide iz družine Eulophidae, od katerih sta dva osebka pripadala vrsti *Minotetrastichus frontalis* (Nees). Iz gosenic kostanjevega listnega zavrtača smo izolirali glive iz rodov: *Fusarium* sp. (62 %), *Alternaria* sp. (21 %), *Cladosporium* sp. (14 %) in *Penicillium* sp. (3 %).

Ključne besede: kostanjev listni zavrtač, *Cameraria ohridella*, divji kostanj, naravni sovražniki, parazitoide, glive, Ljubljana

ABSTRACT

MONITORING OF THE HORSE CHESTNUT LEAF MINER (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimić) AND ITS NATURAL ENEMIES

We followed the number of emerged moths of horse chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella* /Deschka & Dimić/) using pheromone traps and observed the occurrence of their natural enemies in the area of Ljubljana. Our results showed that three generations of the horse chestnut leaf miner developed in the course of the year. Moths emerged from the late April until the late September. Their emergence is also dependent on weather conditions. The results of our research showed that parasitism rate of larvae was very low. During our research we found three parasitoids, which are classified in the Eulophidae family, two specimens belong to *Minotetrastichus frontalis* (Nees). We observed four different fungus genus: *Fusarium* sp. (62 %), *Alternaria* sp. (21 %), *Cladosporium* sp. (14 %), *Penicillium* sp. (3 %). They were isolated from the leaf miner larvae.

Key words: horse-chestnut leafminer, *Cameraria ohridella*, horse chestnut, natural enemy, parasitoids, fungus, Ljubljana

1 UVOD

V Sloveniji so kostanjevega listnega zavrtača (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimić, Lepidoptera, Gracillariidae) prvič našli leta 1994 na območju Novega mesta (Milevoj, Maček, 1997) in Ormoža (Gomboc, 2000), ko je bil napad na listih navadnega divjega kostanja že srednje intenziven, iz česar sklepamo, da je v Slovenijo zavrtač napredoval že leta 1993. Leta 1998 je bil razširjen po vsej državi (Oven, 2001). Hitro se je širil, ker ni naletel na učinkovite

¹diplomantka Biotehniške fakultete, Oddelek za agronomijo, e-mail: katja.kosir@gmail.com

²upokojena red. prof., dr. znan., e-mail: lea.milevoj@gmail.com

naravne sovražnike, ki bi ga zadržali. Med njimi so pomembni parazitoidi. Doslej je bilo odkritih prek 60 vrst parazitoidov, ki napadajo kostanjevega listnega zavrtača (Lees in sod., 2009), vendar dovolj učinkovitega, niso našli (Grabenweger, 2004).

Med koristnimi organizmi so tudi entomopatogene glive, ki povzročajo glivična obolenja žuželk. Okužujejo odrasle osebkke, ličinke, pa tudi bube z micelijem skozi integument, pri čemer prepredejo celo telo, hife prodrejo na površje kutikule. V povezavi s kostanjevim listnim zavrtačem so slabo preučene. Parazitoide in entomopatogene glive moramo iskati med avtohtonimi vrstami, ki se prilagajajo novemu gostitelju tudi na območju Ljubljane.

2 MATERIALI IN METODE

Kostanjevega listnega zavrtača smo spremljali od 18. aprila 2006 do 30. septembra 2006 na območju Ljubljane s feromonskimi vabami tipa VARL+ Csal♀m♂N®. Na lokaciji Rožna dolina, kjer je vzdolž železniške proge speljan drevored kostanjev, smo obesili dve vabi, na lokaciji park Tivoli, kjer je velika gostota dreves navadnega divjega kostanja, smo obesili drugi dve feromonski vabi. Namestili smo jih v krošnje dreves od 1,5 do 2 metra visoko nad tlemi. Metuljčke smo pobirali iz vab dvakrat tedensko in jih ročno šteli od 20. aprila do 28. septembra 2006.

Za ugotavljanje naravnih sovražnikov kostanjevega listnega zavrtača smo na lokaciji Rožna dolina izbrali 5 dreves navadnega divjega kostanja in prav tako 5 dreves na lokaciji Tivoli. Iz spodnjega dela dreves smo v dosegu rok poleti 2006 na različnih straneh krošnje potrgali naključno izbrane napadene liste, na katerih smo izvrtine izbrali naključno. Pregledali smo 300 izvrtin. V listnih izvrtinah smo iskali potencialne koristne vrste s poudarkom na parazitoidih in entomopatogenih glivah. Izvrtino smo odprli pod stereomikroskopom, na zgornji strani lista, tako da je bila vidna vsebina izvrtine. Pregledano izvrtino, v kateri se je nahajala gosenica, smo izrezali in dali v sterilno petrijevko, na inkubacijo, da bi se razvili morebitni parazitoidi oziroma glive. V vsako petrijevko smo dali po tri listne izvrtine in en sterilni tampon, prepojen z destilirano vodo, za vzdrževanje vlage. Plastične posode s prozornim pokrovom, katerih dno smo prekrili s staničevino, smo napolnili s tako pripravljenimi petrijevki. Staničevino smo vlažili na 2 dni z destilirano vodo in jo dvakrat tedensko zamenjali. Posode smo položili na začetku na sobno temperaturo na svetlobo na okenske police v laboratoriju. Vzorce organizmov v njih smo večkrat pregledali. Zanimive, ki so kazali znamenja parazitiranosti ali okuženosti, smo pustili za nadaljnjo inkubacijo žuželke ali za izolacijo micelija. Vzorce, ki so kazali znamenja parazitiranosti smo inkubirali v gojitveni komori pri 85 % vlagi in 22 °C, ko je bilo od 6. ure zjutraj do 20. ure zvečer v komori svetlo, od 20 ure zvečer do 6 ure zjutraj je bila tema.

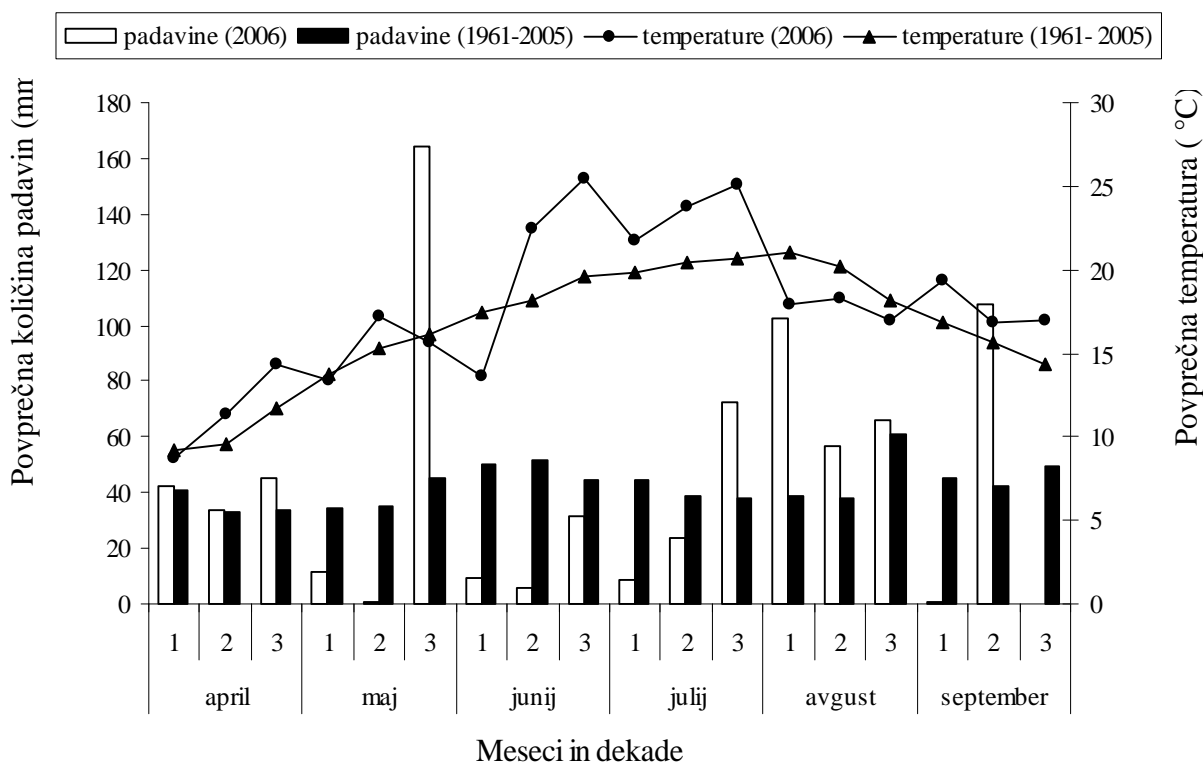
Za izolacijo gliv smo uporabili sterilno gojišče iz krompirjevega agarja (PDA+A). Ta del poskusa je potekal v aseptični (brezprašni) komori Geraline. Na strjeno gojišče smo s cepilno zanko prenesli micelij s telesa inkubiranih gosenic. Za vsak osebek smo napravili po 6 ponovitev. Inkubacija je potekala v termostatsko nadzorovanem inkubatorju pri 22 °C, v temi. Zrasle kulture smo makroskopsko pregledali že po nekaj dneh, ter po 30 dneh tudi pod mikroskopom v Laboratoriju za fitopatologijo na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete. Na podlagi makroskopskega in mikroskopskega pregleda smo izolate razvrstili v 4 skupine, ki smo jih označili z A, B, C in D in jih določili do rodu.

V začetku oktobra 2006 smo na obeh lokacijah na vsakem izmed petih kostanjevih dreves nabrali po 20 listov, ki so bili napadeni od zavrtača. Liste smo shranili v 6 dovolj velikih in zračnih vreč. V posamezno vrečo smo tako dali prek 30 kostanjevih listov, katere smo ustrezno označili po lokacijah in jih dali na prezimovanje. Vreče smo postavili na tla v ekološki sadovnjak na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani ter jih prekrili s kovinsko mrežo. Mreža je varovala listje prek zime pred odnašanjem zaradi vetra in živali. Spomladi leta 2007 smo ponovili postopek pregledovanja izvrtin in spremljanja zastopanosti parazitoidov v prezimelih listih..

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Vremenske razmere

V letu 2006 je bila povprečna mesečna temperatura za več kot 1,5 °C nad dolgoletnim povprečjem, količina padavin je bila manjša od dolgoletnega povprečja in je predstavljala dobrih 80 % povprečja padavin. Podatki o povprečni mesečni temperaturi zraka in količini padavin v času poskusa po dekadah ter dolgoletno povprečje je prikazano na sliki 1.

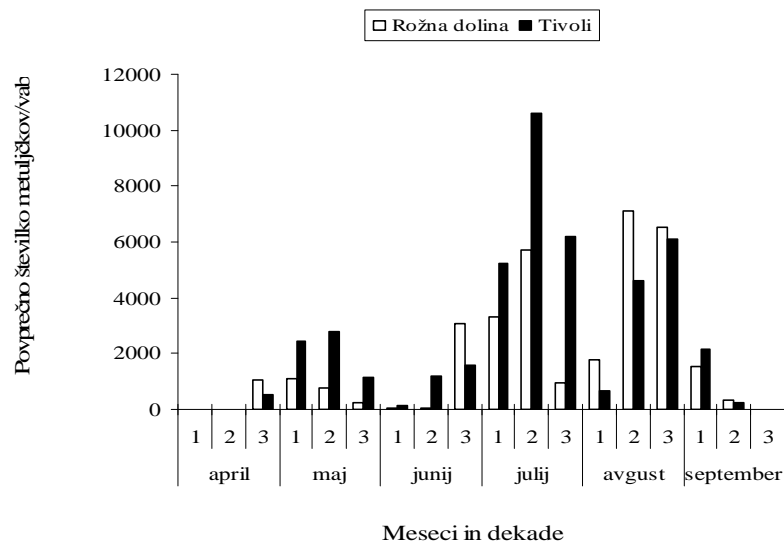


Slika 1: Povprečna temperatura zraka in skupna količina padavin v Ljubljani po dekadah in mesecih v času poskusa in dolgoletno povprečje (ARSO, 2006)

Figure 1: The average air temperature and total rainfall according to ten moths and long-term average during the experiment in Ljubljana (ARSO, 2006)

3.2 Spremljanje metuljev

V letu 2006 je kostonjev listni zavrtač na območju Ljubljane razvil tri rodove. Metulji prvega rodu so se pojavili v zadnji dekadi aprila in so izletavali množično v prvi polovici maja. Padavine konec maja in nenadna ohladitev v začetku junija so zmanjšale število metuljčkov. Drugi rod se je po ohladitvi začel pojavljati v drugi dekadi junija, nato so metuljčki množično izletavali vse do konca julija. Metuljčki tretjega rodu so začeli množično izletavati v drugi polovici avgusta, ko so dosegli kulminacijo 22. avgusta na lokaciji Rožna dolina. Tretji rod se je zaključil v drugi dekadi septembra, ko je bilo nadpovprečno veliko padavin. Od druge dekade septembra dalje se je ulovilo malo metuljčkov.



Slika 2: Število ujetih metuljev kostanjevega listnega zavrtača (*Cameraria ohridella*) v feromonske vabe na lokaciji Rožna dolina in Tivoli.

Figure 2: The number of trapped moths chestnut leafminer (*Cameraria ohridella*) in pheromone traps at the Rožna dolina and Tivoli

3.3 Spremljanje koristnih organizmov (naravnih sovražnikov)

V obdobju našega poskusa smo v različnih terminih našli tri primerke parazitoidov, dva sta pripadala vrsti *Minotetrastichus frontalis* (Nees), medtem ko tretjemu osebkju zaradi poškodovanosti, nismo mogli določiti vrstne pripadnosti. Potrdili smo lahko le, da pripada družini Eulophidae. Parazitiranost je po tujih ugotovitvah (Lees in sod., 2009) največkrat pod 10 % in navadno ne preseže 25 %. Razlog za tako majhen odstotek parazitiranosti je moč iskati v tem, da imajo lokalni parazitoidi več različnih vrst gostiteljev. V Sloveniji so leta 2003 našli na kostanjevem listnem zavrtaču v Lipici, pet različnih vrst parazitoidov, vse iz družine Eulophidae (Volter in Kenis, 2006). Parazitoidna vrsta *Minotetrastichus frontalis* (Nees) je bila najpogostejša. Poleg navedene so tisto leto v Lipici našli še štiri druge parazitoidne vrste: *Closterocerus trifasciatus* (Westwood), *Pediobius saulius* (Walker), *Pnigalio agraulis* (Walker) ter *Cirrospilus diallus* (Walker). Vrsta *Pediobius saulius* (Walker) se pogosto pojavlja v jugovzhodni Evropi, medtem ko je v preostalem delu Evrope bolj pogosta na drugih vrstah zavrtačev in ne toliko na kostanjevem listnem zavrtaču. Vrsta *Cirrospilus diallus* (Walker) je edini primer parazitoida, ki je bil pri tej raziskavi odkrit le v Sloveniji in tako predstavlja tudi novo odkritega parazitoida na kostanjevem listnem zavrtaču. Volter in Kenis (2006) navajata, da je parazitiranost na kostanjevem listnem zavrtaču majhna, od 1 % do 17 %.

Med 29 izolati gliv jih je največ pripadalo rodovoma *Fusarium* (18 oziroma 62 %) in *Alternaria* (6 oziroma 21 %), štirje izolati so bili iz rodu *Cladosporium* (14 %) in en izolat iz rodu *Penicillium* (3 %) (preglednica 1).

Izolati rodu *Fusarium* tvorijo okroglo kolonijo, micelij je v sredini temno sivozelen, na robu puhasto bel. Troso so enocelični in dvocelični, oboji ovalne oblike. To so mikrokonidiji glive *Fusarium*. Makrokonidijev ni bilo. Izolati iz rodu *Alternaria* sp. oblikujejo temen micelij, trose kijaste oblike, večcelične s prečnimi in vzdolžnimi pregradami.

Izolati rodu *Cladosporium* sp. oblikujejo okroglo kolonijo, micelij je temno sive barve, katerega obdaja svetel obroč. Troso so 1- in 2-celični v verižici. Izolati, ki pripadajo rodu *Penicillium* sp. oblikujejo micelij temne barve, septiran, na čopičasto razvejanih konidioforih, so okroglasto ovalni konidiji.

Preglednica 1: Izolirane glive iz kostanjevega listnega zavrtača (*Cameraria ohridella*).
Tabele 1: The isolated fungi from the horse chestnut leafminer (*Cameraria ohridella*).

Rod glive	Število izolatov	%
<i>Fusarium</i>	18	62
<i>Alternaria</i>	6	21
<i>Cladosporium</i>	4	14
<i>Penicillium</i>	1	3
Skupaj	29	100

Doslej je dokazana učinkovitost entomopatogenih gliv proti velikemu številu različnih škodljivcev (Lacey in sod., 2001). Poleg že znanih entomopatogenih gliv iz rodov *Entomophthora*, *Beauveria*, *Metarhizium* in *Verticillium*, znanstveniki omenjajo tudi druge vrste, ki pripadajo rodovom *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* in *Fusarium* (Christias in sod., 2001). Entomopatogene glive iz rodu *Cladosporium* spp. so izolirali iz različnih vrst žuželk in pršic in pri tem odkrili njihov velik pomen pri biotičnem zatiranju žuželk in pršic (Eken in Hayat, 2009). Abdel_Baky (2000) je izoliral glive *Cladosporium* spp. iz dveh vrst žuželk, ki so bile zelo patogene za nekatere ščitkarje in listne uši. V povezavi s kostanjevim listnim zavrtačem so entomopatogene glive slabo preučene.

4 SKLEPI

Metuljčki vrste *Cameraria ohridella* so se na območju Ljubljane v letu 2006 pojavili konec aprila, množično v prvi polovici maja. Sledi njihovo pojemanje, ki je povezano z ohladitvijo. Po ohladitvi sledi drugi rod v drugi dekadi junija, kar je trajalo do konca julija. Tretji rod sledi v drugi polovici avgusta in se zaključi v drugi dekadi septembra, ko je veliko padavin.

Zastopanost parazitoidov kostanjevega listnega zavrtača je bila majhna. Parazitiranost je bila manj kot 1,0 %. Našli smo tri parazitoide iz družine Eulophidae od katerih sta dva primerka pripadala vrsti *Minotetrastichus frontalis* (Nees).

Iz žuželk v izvrtinah, smo izolirali 29 izolatov gliv, ki so pripadali rodovom *Fusarium* (18 oziroma 62 %), *Alternaria* (6 oziroma 21 %), *Cladosporium* (4 oziroma 14 %) in *Penicillium* (1 oziroma 3 %).

5 LITERATURA

- Abdel_Baky N. F. 2000. *Cladosporium* spp. an Entomopathogenic Fungi for Controlling Whiteflies and Aphids in Egypt. Pakistan Journal of Biological Sciences 3(10): 1662-1667.
- ARSO. 2006. Mesečni bilten. Ljubljana, Agencija Republike Slovenije za okolje, 13: 5 str.
<http://www.arso.gov.si/o%20agenciji/knjiznica/mesečni%20bilten/bilten2006.htm> (12.3.2010)
- Christias Ch., Hatzipapas P., Dara A., Kaliapas A., Chrysanthos G. 2001. *Alternaria alternata*, a new pathotype pathogenic to aphids. BioControl, 46: 105-124.
- Eken C., Hayat R. 2009. Preliminary evaluation of *Cladosporium cladosporioides* (Fresen) de Vries in laboratory conditions, as a potential candidate for biocontrol of *Tetranychus urticae* Koch. World Journal Microbiology Biotechnology, 25: 489-492.
- Gomboc S. 2000. Morfologija, biologija in širjenje kostanjevega in platanovega listnega zavrtača v Sloveniji in njima sorodni organizmi. V: Posvetovanje o varstvu divjega kostanja in platane v urbanem prostoru. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 2. str.
http://www.fito-info.si/index1.asp?ID=Posveti/Kost_pla/izvlecki/Gomboc.asp (26.2.2010)
- Grabenweger G. 2004. Poor control of the horse chestnut leafminer, *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae), by native European parasitoids: a synchronisation problem. European Journal of Entomology, 101: 189-192.

- Lacey L.A., Frutos R., Kaya H.K., Vails P. 2001. Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future? *Biological Control*, 21: 230-248.
- Lees D.C., Lopez-Vaamonde C., Augustin S. 2009. *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić 1986. Washington, D.C., EOLspecies: 19 str.
<http://eolspecies.lifedesks.org/pages/8675> (23.11.2009)
<http://www.metrob.si/fitofarmacijski-pripravki/neemazal-ts/> (18.3.2010)
- Milevoj L., Maček J. 1997. Roßkastanien-Miniermotte (*Cameraria ohridella*) in Slowenien. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 49: 14-15
- Oven P. 2001. Je navadni divji kostanj ogrožena vrsta? *Proteus*, 63, 6: 273-275.
- Volter L., Kenis M. 2006. Parasitoid complex and parasitism rates of the horse chestnut leafminer, *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in the Czech Republic, Slovakia and Slovenia. *European Journal of Entomology*, 103: 365-370.