

GLIVIČNE BOLEZNI SOJE V SLOVENIJI

Metka ŽERJAV¹, Karmen RODIČ², Marjeta URBANČIČ ZEMLJIČ³,
Hans-Josef SCHROERS⁴

^{1,3,4}Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana
²KGZS – Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto

IZVLEČEK

Pridelovanje soje se je v Sloveniji uveljavilo v zadnjem desetletju. Površina njiv s sojo je v Sloveniji narasla s 50 ha v letu 2008 na 2500 ha v letu 2016. O boleznih in škodljivcih, ki bi se v naših rastnih razmerah lahko širili in ogrožali pridelovanje soje, še ni podatkov. Glivične bolezni v svetu zmanjšajo pridelek soje za okrog 10 %. Da bi ugotovili zastopanost in razširjenost za sojo patogenih gliv v Sloveniji, smo v letih 2015 in 2016 pregledali 26 posevkov v različnih območjih Slovenije. Glive smo identificirali na podlagi morfoloških značilnosti in z molekularno metodo črtnega kodiranja. Na polovici pregledanih njiv ali pogosteje smo potrdili glive iz rodov *Diaporthe* (*Phomopsis*) in *Colletotrichum*. Rjava listna pegavost soje (*Septoria glycines*) v letu 2015 ni bila razširjena, v letu 2016 pa je bila najdena na 83 % njiv in bolezenska znamenja so bila v nekaterih posevkih močno izražena. Sojina plesen (*Peronospora manshurica*) je bila razširjena v obeh letih (na 46 % njiv), vendar bolezenska znamenja niso bila močno izražena. Gliva *Macrophomina phaseolina* se je pojavila na 15 % njiv. V tleh preživi v obliki mikrosklerocijev in ima zelo širok krog gostiteljev. Vrste iz rodu *Fusarium* in belo gnilobo (*Sclerotinia sclerotiorum*) smo našli na petini pregledanih njiv s sojo.

Ključne besede: glivične bolezni, razširjenost, Slovenija, soja

ABSTRACT

SOYBEAN DISEASES CAUSED BY FUNGI IN SLOVENIA

Commercial soybean production has started in Slovenia in the last decade. The soybean production area has increased from 50 ha in 2008 to 2500 in 2016. No data are available about pests and diseases that pose a risk to soybean under growing conditions in Slovenia. Fungal pathogens cause yield losses of ca. 10% in world-wide estimations. In order to identify pathogenic fungi that occur on soybean in Slovenia and to infer the fungal disease incidence, 26 soybean fields were surveyed in different regions in 2015 and 2016. Fungi were identified according to their morphological

¹ mag. agr. znan., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: metka.zerjav@kis.si

² mag. agr. znan., Šmihelska cesta 14, SI-8000 Novo mesto

³ mag. agr. znan., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

⁴ dr., prav tam

characters and with DNA barcode approaches. *Diaporthe* (*Phomopsis*) and *Colletotrichum* species were found in half of the fields or even more often. Brown leaf spot caused by *Septoria glycines* was not detected in 2015 but it appeared in 83% of the fields in 2016. The symptoms of brown leaf spot were severe in some fields. Downy mildew (*Peronospora manshurica*) was widespread in both years (in 46% of fields) but symptoms were inconspicuous. *Macrophomina phaseolina* appeared in 15% of the fields. It can survive in soil by forming microsclerotia and has very broad host range. Species of *Fusarium* and the white rot agent *Sclerotinia sclerotiorum* were isolated from soybean plants in approximately one fifth of the fields.

Key words: distribution, fungal diseases, Slovenia, soybean

1 UVOD

Pridelovanje soje se je začelo uveljavljati šele po letu 2008 in od takrat so površine njiv s sojo narasle s 50 ha na 2500 ha, kolikor je bilo posejanih v letu 2016. Pričakovati je, da se bodo z naraščanjem pridelave stopnjevale tudi težave povezane z boleznimi. O boleznih in škodljivcih, ki bi se v naših rastnih razmerah lahko širili in ogrožali pridelovanje soje, doslej ni bilo podatkov. Z namenom ugotavljanja, katere glivične bolezni se na soji pojavljajo v Sloveniji, smo v letih 2015 in 2016 pregledovali posevke in identificirali povzročitelje bolezni.

400

Po grobi oceni je globalna izguba pridelka soje zaradi glivičnih bolezni približno 10 %. Temelji na oceni narejeni v letu 2006 za Brazilijo, Argentino in ZDA, katerih pridelok predstavlja 82 % vsega svetovnega pridelka. Med geografskimi območji so velike razlike glede razširjenosti in gospodarskega pomena posamezne bolezni. Tako je v Braziliji največji dejavnik zmanjšanja pridelka sojina rja (*Phakopsora pachyrhizi*), ki pa ima v Argentini in ZDA zaradi drugačnih podnebnih razmer manjši vpliv na pridelavo. V Argentini po vplivu na pridelok izstopajo listne pegavosti (*Septoria glycines* in glive iz rodu *Cercospora*) in trohnoba korenin in stebela, ki jo povzroča gliva *Macrophomina phaseolina* (Compendium..., 2015). Gliva *M. phaseolina* je razširjena na vseh celinah in je poleg soje patogen prek 500 rastlinskih vrst, med drugim tudi fižola in koruze. V tleh se ohrani v obliki mikrosklerocijev od 2 do 15 let. Prenaša se tudi s semenom soje. Je termofilna gliva in poleti se pri temperaturi nad 30 °C hitro širi in povzroča sušenje rastlin, podobno odmiranju zaradi suše. Izguba pridelka pri nekaterih pridelovalcih v ZDA je od 30 do 50 %, v vročih območjih Indije celo do 80 % (Gupta in sod., 2012). Naraščajoč problem pri pridelovanju soje je tudi bolezen, ki jo povzroča gliva *Fusarium virguliforme*. Kaže se s predčasnim odpadanjem listov, odmiranjem strokov in sušenjem celih rastlin. Pripisujejo ji, da v omenjenih treh državah v povprečju zmanjša pridelok soje za 1 %. V ZDA največ izgub povzroči koreninska gniloba, ki jo povzroča fitoftora (*Phytophthora sojae*). Tudi bolezni, ki jih povzročajo glive iz rodu *Diaporthe* lahko, odvisno od odpornosti sort v pridelavi in lokalnega podnebja, povzročijo znatne izgube pridelka (Compendium..., 2015). Za imenovanje vrst v rodu *Diaporthe* se je v preteklosti uporabljalo različne sinonime. V fitopatologiji so bile pogosto obravnavane kot vrste iz rodu *Phomopsis*. Bolezenska znamenja na soji so zelo

raznolika: črna pegavost stebel soje, ožig stebel z venenjem in odmiranjem rastlin, pegavost in ožig strokov, plesnivost semen, gnitje semen in sejancev (Santos in sod., 2011, Udayanga in sod., 2015). V Evropi so nekatere vrste iz rodu *Diaporthe* razširjene in škodljive tudi v območjih, ki so podnebno podobna Sloveniji, npr. v Avstriji, Italiji, Hrvaški in Srbiji (Santos in sod., 2011; Riccioni in Petrović, 2012; Weingast in Weinhhappel, 2014).

2 MATERIAL IN METODE

V različnih območjih Slovenije (Gorenjska, Posavje, Štajerska, Primorska, Bela krajina, Prekmurje) smo izbrali 26 njiv s sojo: 8 v letu 2015 in 18 v letu 2016. Posevke smo pregledovali v času od sredine julija do konca septembra. Večino njiv smo pregledali enkrat, na 4 njivah pa smo opravili 2 pregleda. Pri pregledu smo na eni lokaciji odvzeli več vzorcev (listi, stebela, stroki, cele rastline s korenino) odvisno od izraženosti bolezenskih znamenj. Glive smo določali z opazovanjem morfoloških značilnosti na substratu ali po izolaciji na gojišču. Identifikacija večine vrst iz rodu *Diaporthe* na podlagi morfoloških značilnosti ni zanesljiva, saj so morfološke razlike med vrstami zelo majhne. Za izolate gliv, ki smo jih morfološko opredelili, da pripadajo rodu *Diaporthe*, smo opravili identifikacijo vrst z molekulsko metodo črnega kodiranja. Izbrali smo lokuse ITS rDNK regije 1 in 2 vključno s 5.8S rRNA genom (ITS) in gena translacijski elongacijski faktor-1 alfa (TEF). Začetni oligonukleotidi, ki smo jih uporabili za pomnoževanje oziroma pri sekvenciranju so bili ITS1F (Gardes in Bruns, 1993), NL4 (O'Donnell, 1992) in ITS4 (White in sod., 1990) za ITS ter EF1, EF2 (O'Donnell in sod., 1998), EF1-728F in EF1-986R (Carbone in Kohn, 1999) za TEF. V PCR reakciji je bil uporabljen KAPA2G Robust Hot Start PCR Kit s pufrom A v skladu z navodili proizvajalca. Reakcija je potekala v cikličnem termostatu Applied Biosystems Veriti Thermal Cycler. PCR produkte smo preverili po elektroforezi na agaroznem gelu in jih poslali na sekvenciranje v Macrogen Europe. Sekvence, dobljene s sekvenciranjem v obe smeri, smo uredili s programom Bioedit (Hall, 1999). Identiteto, podobnost in filogenetsko povezanost dobljenih sekvenc smo ocenjevali s primerjavo s sekvencami objavljenimi v delih avtorjev Santos in sod. (2011), Gomes in sod. (2013) in Udayanga in sod. (2015), pri čemer smo uporabili programsko opremo MEGA 6.06 (Tamura in sod., 2013).

Za posameznega povzročitelja bolezní smo izračunali pogostost pojavljanja (incidenca), izraženo kot odstotek njiv, na katerih se je pojavil.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V obeh letih je bilo nabranih in analiziranih skupaj 55 vzorcev soje. Bolezenska znamenja, kot so ožigi na steblih in venenje, črna pegavost stebel in plesenje semena, so bila pogosta in glive iz rodu *Diaporthe* so bile izolirane iz vzorcev soje v vseh pridelovalnih območjih, z izjemo Primorske. Pojavljale so se, če upoštevamo obe leti, v povprečju na 69 % pregledanih njiv. Identificirali smo vrste *Diaporthe sojæ* Lehman, *Diaporthe caulivora* (Athow & Caldwell) J.M. Santos, Vrandečić & A.J.L. Phillips in *Diaporthe longicolla* (Hobbs) J.M. Santos, Vrandečić & A.J.L. Phillips. Ker je bilo najpogosteje opaženo bolezensko znamenje črna pegavost stebel in največkrat izolirana vrsta *D. sojæ* sklepamo, da je ta vrsta bolj razširjena od ostalih

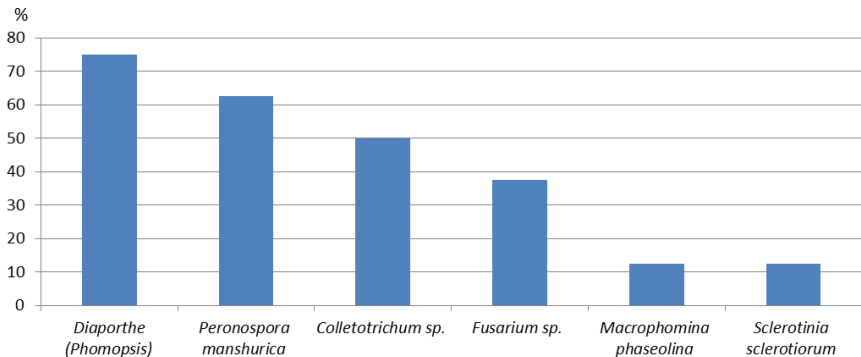
dveh. V letih, ko je vreme v času dozorevanja soje deževno in dovolj toplo (15 do 20 °C), so izgube pridelka lahko velike, saj zrnje zaradi okužbe splesni. Vse tri vrste se prenašajo s semenom, vendar okužbo semena največkrat povzroča vrsta *D. longicolla*. Okuženo seme ima slabšo kalivost in del okuženih sejancev po vzniku propade (Compendium... , 2013). Stopnjo okužbe z glivami rodu *Diaporthe* urejajo tudi nacionalni predpisi, po katerih okuženost semena ne sme presežati 15 % (Pravilnik o trženju... , 2005). V raziskavi kakovosti semena soje v procesu certifikacije v Avstriji v letih od 2009 do 2013 je bila od *Diaporthe* vrst na semenu najbolj pogosta *D. longicolla* (50 %), sledili sta vrsti *D. sojae* in *D. caulivora*, delež neustreznih vzorcev semena, kjer je bila presežena mejna vrednost pa je bil v posameznih letih 10 % in več (Weingast in Weinhappel, 2014).

Preglednica 1: Lokacije najdb za izbrane glive, povzročiteljice bolezni soje v letih 2015 in 2016.

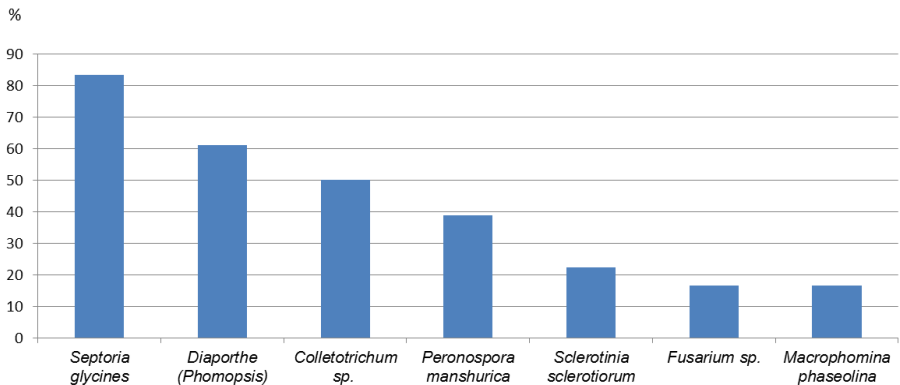
Povzročitelj bolezni	Število njiv	Lokacija
<i>Diaporthe (Phomopsis)</i>	18	Komenda (3 njive), Loče (2 njivi), Brežice (2 njivi), Lenart, Rakičan, Moravske toplice, Rakičan, Dobova, Martjanci, Otok (Bela krajina), Moste pri Komendi, Mengeš, Spodnji Brmik, Trgovišče
<i>Septoria glycines</i>	15	Komenda (dve njivi), Lahovče, Loče (2 njivi), Brežice, Dobova, Lenart, Pernica, Pragersko, Rakičan, Moravske toplice (dve njivi), Ajševica, Miren
<i>Peronospora manshurica</i>	12	Lahovče, Komenda (2 njivi), Lenart, Pernica, Miren, Rakičan, Moravske toplice, Trgovišče, Brežice, Otok (Bela krajina), Mengeš
<i>Colletotrichum</i> spp.	13	Brežice (2 njivi), Martjanci, Rakičan, Trgovišče, Moravske toplice (2 njivi), Lenart, Pragersko, Dobova, Komenda (2 njivi), Mengeš
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	5	Lenart, Martjanci, Moravske toplice, Brežice, Trgovišče
<i>Macrophomina phaseolina</i>	4	Brežice (2 njivi), Rakičan, Lenart

Rjava listna pegavost soje (*Septoria glycines* Hemmi) je bila v letu 2016 najdena na 83 % njiv, leto prej pa je nismo opazili. Bolezenska znamenja so bila na nekaj njivah močno izražena, listi so predčasno odpadali, tudi na steblih so se pojavljale pege. Glede na to, da je patogen specializiran za sojo in se je pojavljal tudi na njivah, kjer soje prej niso pridelovali, predvidevamo, da je bilo seme vir okužbe.

Sojina plesen (*Peronospora manshurica* [Naumov] Syd.) je bila pogosta v vseh območjih, vendar bolezenska znamenja, ki so se se sicer pojavila že v času vegetativnega razvoja soje v obliki manjših rumenih in pozneje rjavih peg, niso bila močno izražena. Delež okužene listne površine na večini opazovanih njiv ni presegal 3 %.



Slika 1: Pogostost pojavljanja povzročiteljev glivičnih bolezni soje v letu 2015.



Slika 2: Pogostost pojavljanja povzročiteljev glivičnih bolezni soje v letu 2016.

Glivo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. smo našli v Prekmurju, na Štajerskem in v Posavju, kjer so rastline v posevku propadale tudi v večjih skupinah. Bolezenska znamenja so se pojavila v času dozorevanja. V Posavju smo jo prvič našli že v letu 2014 in v obeh letih te raziskave, kar kaže na njeno morebitno ustaljenost.

Glive iz rodu *Colletotrichum* so se pojavljale predvsem v času dozorevanja na rastlinah, ki so se že sušile, zato jih pri večini vzorcev nismo mogli neposredno povezati z bolezenskimi znamenji. Identificirali smo vrsto *Glomerella glycines* Lehman & F.A. Wolf, ki smo jo izolirali iz stebel soje.

Med glivami, ki imajo sicer širok krog gostiteljev med gojenimi rastlinami, smo na soji določili tudi glive iz rodov *Fusarium* in *Rhizoctonia* ter glivo *Sclerotinia sclerotiorum*, ki povzroča belo gnilobo. Šlo je za posamezne rastline z bolezenskimi znamenji in ne za obširnejše propadanje rastlin.

4 SKLEPI

Bolezni, za katere na podlagi prvih opazovanj posevkov sklepamo, da imajo v Sloveniji ugodne razmere za širjenje in bi lahko vplivale na zmanjšanje pridelka, so predvsem rjava listna pegavost soje in bolezni, ki jih povzročajo glive iz rodu *Diaporthe*. Razširjenost rjave listne pegavosti po vsej Sloveniji v letu 2016 je bila povezana z okužbo semena in ugodnimi razmerami za razvoj bolezni. Škodljiva bi lahko postala v vročih in suhih poletjih tudi gliva *M. phaseolina*, če bi se v pridelovalnih tleh razširila in ohranjala v obliki mikrosklerocijev, pa tudi v primeru uporabe semena z visoko stopnjo okužbe. Glede na pomen širjenja glivičnih bolezni s semenom je skrb za zagotavljanje kakovostnega semena bistveni preventivni ukrep za preprečevanje širjenja. Nekateri ugotovljeni povzročitelji bolezni na soji imajo zelo širok krog gostiteljev (*Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, vrste iz rodu *Fusarium*) in se ohranjajo v tleh daljša obdobja, kar je potrebno upoštevati pri načrtovanju kolobarja.

5 LITERATURA

- Compendium of Soybean Diseases and Pests, Fifth Edition. 2015. Hartman, G.L., Rupe, J.C., Sikora, E.J., Domier, L.L., Davis, J.A., Steffey, K.L., eds. APS Press, St. Paul: 201 str.
- Carbone, I., Kohn, L.M. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, 91: 553–556.
- Gardes, M., Bruns T.D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.*, 2: 113–118.
- Girish, K., Gupta, G.K., Sharma, S.K., Ramteke, R. 2012. Biology, Epidemiology and Management of the Pathogenic Fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with Special Reference to Charcoal Rot of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Journal of Phytopathology*, 160, 4: 167–180.
- Gomes, R.R., Glienke, C., Videira, S.I.R., Lombard, L., Groenewald, J.Z., Crous, P.W. 2013. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. *Persoonia*, 31: 1–41.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41:95–98.
- O'Donnell, K. 1992. Ribosomal DNA internal transcribed spacers are highly divergent in the phytopathogenic ascomycete *Fusarium sambucinum* (*Gibberella pulicaris*). *Curr Genet.*, 22: 213–20.
- O'Donnell, K., Kistler, H.C., Cigelnik, E., Ploetz, R.C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *PNAS*, 95: 2044–2049.
- Pravilnik o trženju semena oljnic in predivnic. 2005. Uradni list Republike Slovenije, 8/05.
- Riccioni, L., Petrović, K. 2012. Identification of pathogenic fungi from soybean. V: International Conference on BioScience: Biotechnology and Biodiversity, Step in the future, The Forth Joint UNS – PSU, June 18-20, 2012, Novi Sad, Serbia: 342-360.
- Santos, J.M., Vrandečić, K., Čosić, J., Duvnjak, T., Phillips, A.J.L. 2011. Resolving the *Diaporthe* species occurring on soybean in Croatia. *Persoonia*, 27: 9–19
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725–2729
- Udayanga, D., Castlebury, L.A., Rossman, A.Y., Chukeatirote, E., Hyde, K.D. 2015. The *Diaporthe* sojiae species complex: Phylogenetic re-assessment of pathogens associated with soybean, cucurbits and other field crops. *Fungal Biology*, 119, 5: 383-407.
- Weingast, A., Weinhappel, M. 2014. *Diaporthe* phaseolorum on soybeans from Austrian breeding regions. V: 65. Tagung Zukünftiges Saatgut - Produktion, Vermarktung, Nutzung und

- Konzervierung. Future Seed - Production, Marketing, Use and Conservation, November 24-26, 2014, Raumberg-Gumpenstein, Austria: 81-83.
- White, T.J., Bruns, T.D., Lee, S., Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J. and White T.J. (eds). PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic, New York, 315–322.