

***Botrytis cinerea* un *B. pseudocinerea* – nozīmīgi pupu  
brūnplankumainības ierosinātāji  
*Botrytis cinerea* and *B. pseudocinerea* – Important Causal  
Agents of Faba Bean Chocolate Spot**

**Jānis Kaņeps<sup>1</sup>, Elīna Brauna-Morževska<sup>1,2</sup>, Biruta Bankina<sup>1</sup>,  
Gunita Bimšteine<sup>1</sup>, Ingrīda Neusa-Luca<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>LLU Lauksaimniecības fakultāte,

<sup>2</sup>LLU Augu aizsardzības zinātniskais institūts “Agrihorts”

**Abstract.** Fungi from genus *Botrytis* are one of the most important and widespread plant pathogens. This genus has around 30 species including four species that are causal agents of faba beans chocolate spot: *B. fabae*, *B. cinerea*, *B. fabiopsis* and *B. pseudocinerea*. Fungi from genus *Botrytis* are morphologically diverse within and between species. The aim of this study was to clarify morphological traits of *B. cinerea* and *B. pseudocinerea*. Pure cultures of *Botrytis* spp. were obtained from infected faba beans (*Vicia faba*) during 2014–2017, morphological traits of isolates were determined at the Laboratory of Plant Pathology. The colour of mycelium was similar for both species – mostly greyish white, followed by white and greyish brown. Occurrence and placement of sclerotia varied between and within species. Only few *B. cinerea* isolates produced few sclerotia that were dispersed across colony of fungus. In opposite, two thirds of *B. pseudocinerea* isolates produced sclerotia, but sclerotia varied in size (from small to large), their placement (dispersed or concentric) and total amount (from few to many). Obtained isolates were diverse in their morphological peculiarities and were different if compared to isolates described by other authors. It was concluded that *B. cinerea* and *B. pseudocinerea* cannot be identified to the species level via their morphological traits, and only molecular-genetic analyses can serve this purpose.

**Key words:** chocolate spot, morphology, diversity, sclerotia, mycelium.

### Ievads

Pupu lapu brūnplankumainība ir viena no nozīmīgākajām tauriņziežu slimībām, ko ierosina *Botrytis* ģints sēnes – *B. fabae*, *B. cinerea*, *B. fabiopsis* un *B. pseudocinerea* (Brauna-Morževska et al., 2019). Starp *Botrytis* ģinti sugām un sugu ietvaros pastāv liela morfoloģiskā daudzveidība (Elad et al., 2016), kas norāda uz lielu ģenētisko daudzveidību un mainību šajā ģintī. Patogēnu morfoloģisko pazīmju pētīšana varētu palīdzēt saistīt noteiktas bioloģiskās īpašības ar konkrētām morfoloģiskām pazīmēm, kas turpmāk būs nepieciešams precīzākai slimību ierobežošanai.

*B. cinerea* ir viena no senākajām un labāk aprakstītajām *Botrytis* sugām, bet *B. pseudocinerea* tika pirmoreiz aprakstīta uz vīnogām (*Vitis vinifera*) 2011. gadā

(Walker et al., 2011), un tikai 2015. gadā tā atrasta uz tauriņziežiem (Plesken et al., 2015). Saskaņā ar literatūras avotiem attiecībā uz citiem kultūraugiem atrastās *B. cinerea* un *B. pseudocinerea* ir morfoloģiski līdzīgas, taču nav aprakstītas *B. pseudocinerea* īpatnības uz lauka pupām.

Pētījuma mērķis ir raksturot no simptomātiskajām lauka pupām iegūto *B. cinerea* un *B. pseudocinerea* izolātu morfoloģisko daudzveidību.

### **Materiāli un metodes**

Pētījumā izmantotas sēņu tīrkultūras, kas iegūtas no inficēto lauka pupu (*Vicia faba* var. *minor*) lapām, stublājiem, pākstīm un sēklām laikā no 2014. līdz 2017. gadam dažādās Latvijas vietās. Augsnes un augu zinātņu institūta augu patoloģijas zinātniskajā laboratorijā sterilos apstākļos no savāktajiem paraugiem tika izdalītas *Botrytis* kolonijas. *Botrytis* kolonijas kultivētas 20 °C temperatūrā ar 12 h dienas un nakts ciklu uz kartupeļu dekstrozes agara (PDA). Pēc septiņām dienām no katras kolonijas malas paņemts 3–4 mm jaunais hifu galiņš un pārsēts uz jaunas PDA barotnes. Šādā veidā iegūti ģenētiski viendabīgi izolāti tālākām analīzēm.

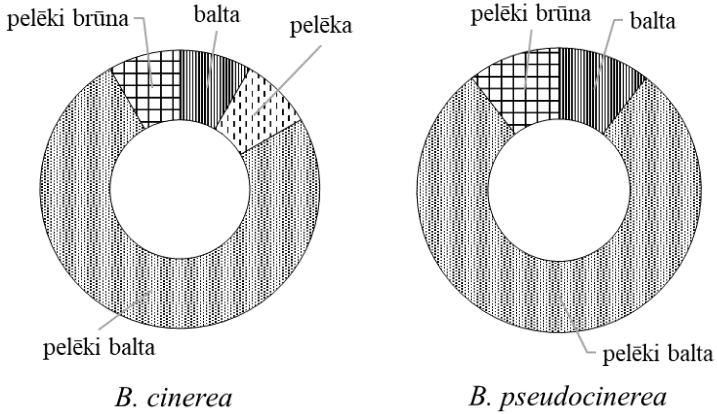
Morfoloģiskās pazīmes raksturotas 21 dienu pēc hifu galiņu pārsēšanas. Šajā pētījumā vērtētas šādas pazīmes – micēlija krāsa un sklerociju veidošanās īpatnības: (nav; daži, mazi (< 4 mm), izklaidus; daudzi, mazi, izklaidus; daudz, lieli (≥ 4 mm), izklaidus; daudz, lieli, koncentriskos apļos; daži, lieli, izklaidus).

### **Rezultāti un diskusija**

Pētījumā iegūti 12 *B. cinerea* un 19 *B. pseudocinerea* izolāti, kuri identificēti ar molekulāri-ģenētiskajām metodēm. Izolāti atšķiras pēc dažādām morfoloģiskajām pazīmēm, tajā skaitā koloniju veidošanās īpatnībām, barotnes krāsošanās un citām. Micēlija krāsa un sklerociju veidošanās īpatnības ir vienas no galvenajām pazīmēm, kuras lieto sugu raksturošanā un identifikācijā.

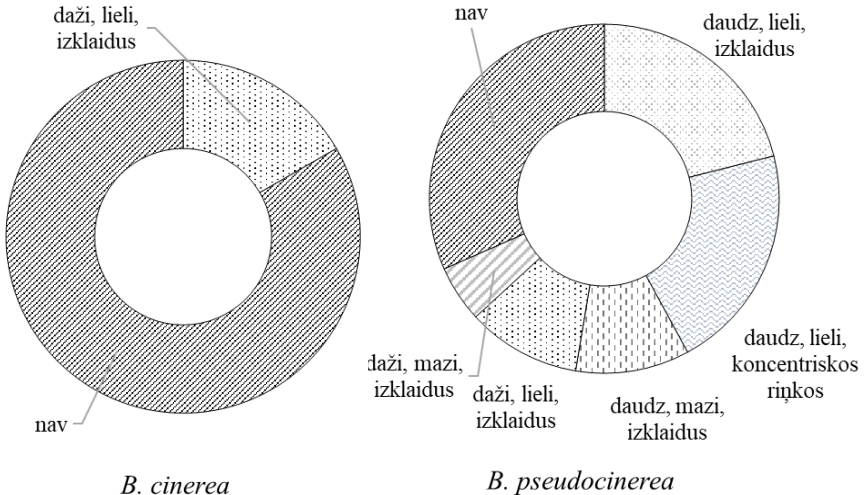
Abu sugu, *B. cinerea* un *B. pseudocinerea* izolātu micēlija krāsa lielākoties bija pelēki balta, attiecīgi 79% un 75% (1. att.). Abu sugu atsevišķi izolāti bija balti (8% un 11% atbilstoši), vai pelēki brūnā krāsā (8% un 11% atbilstoši). Pelēki bija 8% no *B. cinerea* izolātiem, otra suga pelēkus izolātus neveidoja.

Sklerociju veidošanās īpatnības variēja gan starp sugām, gan *B. pseudocinerea* ietvaros. Lielākā daļa no *B. cinerea* izolātiem (83%) sklerocijus neveidoja (2. att.), taču, ja tie veidojās, tie bija lieli un barotnē izvietojās izklaidus. Turpretim tikai 32% *B. pseudocinerea* izolātu sklerocijus neveidoja. Piecos procentos gadījumu izveidojās tikai daži, mazi, izklaidus novietoti sklerociji, 11% izolātu veidoja daudzus mazus sklerocijus, bet 53% gadījumu sklerociji bija lieli, taču atšķīrās to daudzums un izvietojums.



2. att. *B. cinerea* un *B. pseudocinerea* izolātu sadalījums pēc to micēlija krāsas, %.

Iegūtie *B. cinerea* izolāti no citu autoru (Saito et al., 2016; Zhang et al., 2010) aprakstītajiem izolātiem atšķirās ar sklerociju esamību, lielumu un izvietojumu.



2. att. *B. cinerea* un *B. pseudocinerea* izolātu sadalījums atkarībā no sklerocijiem un to izvietojuma, %.

*B. pseudocinerea* ir salīdzinoši jauna suga *Botrytis* ģintī, un tās izolātu morfoloģija ir maz aprakstīta. Pētījumā iegūtās *B. cinerea* un *B. pseudocinerea* izolātu grupas bija morfoloģiski atšķirīgas viena no otras, tomēr pētījumā neizdevās atrast kādu morfoloģisko pazīmi, kas ļautu nošķirt abas sugas, balstoties uz to morfoloģiskajām pazīmēm.

Līdzīgus rezultātus aprakstīja arī *B. pseudocinerea* atklājēji (Walker et al., 2011), kuri nevarēja nodalīt *B. pseudocinerea* no *B. cinerea* balstoties uz šo sugu morfoloģiskajām pazīmēm.

### Secinājumi

Salīdzinot eksperimentā iegūtos *B. cinerea* un *B. pseudocinerea* izolātus savā starpā un ar citu autoru aprakstītajiem izolātiem, var secināt, ka izolātu morfoloģiskās pazīmes nevar tikt izmantotas precīzai *B. cinerea* un *B. pseudocinerea* atpazīšanai līdz sugas līmenim, un šim nolūkam ir jāizmanto molekulāri-ģenētiskās analīzes.

### Literatūra

1. Brauna-Morževska, E., Kaņeps, J., Bankina, B. (2019). Botrytis genus fungi as causal agents of legume diseases: a review. *In: Research for Rural Development: 25th Annual International Scientific Conference Proceedings*, 2019, Vol. 2, pp. 63–69.
2. Elad, Y., Vivier, M., Fillinger, S. (2016). Botrytis, the Good, the Bad and the Ugly. *In: Botrytis – The fungus, the pathogen and its management in agricultural systems*. Ed. Y. Elad. Springer. pp. 1–15.
3. Plesken, C., Weber, R.W., Rupp, S., Leroch, M., Hahn, M. (2015). *Botrytis pseudocinerea* is a significant pathogen of several crop plants but susceptible to displacement by fungicide-resistant *B. cinerea* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 81(20), pp. 7048–7056.
4. Saito, S., Margosan, D., Michailides, T.J., Xiao, C. L. (2016). *Botrytis californica*, a new cryptic species in the *B. cinerea* species complex causing gray mold in blueberries and table grapes. *Mycologia*, 108(2), pp. 330–343.
5. Walker, A.-S., Gautier, A., Confais, J., Martinho, D., Viaud, M., Le Pêcheur, P., Dupont, J., Fournier, E. (2011). *Botrytis pseudocinerea*, a new cryptic species causing gray mold in French vineyards in sympatry with *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 101(12), pp. 1433–1445.
6. Zhang, J., Wu, M.-D., Li, G.-Q., Yang, L., Yu, L., Jiang, D.-H., Huang, H.-C. Zhuang, W.-Y. (2010). *Botrytis fabiopsis*, a new species causing chocolate spot of broad bean in central China. *Mycologia*, 102(5), pp. 1114–1126.