

BOTRYTIS SPP. PATOGENITĀTE DAŽĀDĀM PĀKŠAUGU SUGĀM **PATHOGENICITY OF BOTRYTIS SPP. DEPENDING ON LEGUMES SPECIES**

**Irīna Petrova, Elīna Brauna-Morževska, Gunita Bimšteine, Jānis Kaņeps,
Biruta Bankina**

LLU Lauksaimniecības fakultāte
gunita.bimsteine@llu.lv

Abstract. Leaf spot caused by fungi of the genus *Botrytis* is a significant disease of legumes, especially field beans. Studies on field bean diseases show that leaf spot can be caused by at least four different species of fungi of the genus *Botrytis* - *B. fabae*, *B. fabiopsis*, *B. cinerea* and *B. pseudocinerea*. Complex infections through species interactions are also common. Visually, it is not possible to identify pathogens based only on symptoms. There is different information on the pathogenicity of individual species for different species of legumes. The aim of the study was to determine the pathogenicity of *Botrytis* species to various legumes – field beans (*Vicia faba*), peas (*Pisum sativum*), narrow-leaved lupine (*Lupinus angustifolius*) and soya (*Glucine max*). *Vitro* pathogenicity test used 20 previously identified *Botrytis* spp. isolates. Field beans, peas, narrow-leaved lupine and soya leaves obtained from plants grown in the greenhouse at the 35 BBCH were used in test. All four *Botrytis* species are pathogenic to the legumes used in the experiment, meaning that they were able to infect plants *in vitro*. But aggressiveness (the rate of infection) was dependent on species. *B. fabae* and *B. fabiopsis* were more aggressive against field beans, while *B. cinerea* and *B. pseudocinerea* also rapidly infected peas and narrow-leaved lupine. Soya symptoms were insignificant as soy isolates were not used for inoculation.

Key words: *Botrytis fabae*, *Botrytis fabiopsis*, *Botrytis cinerea*, *Botrytis pseudocinerea*.

Ievads

Pākšaugi ir vieni no vērtīgākajiem kultūraugiem, kurus audzē Latvijā. Galvenokārt tos audzē lopbarības ražošanai un augsnes ielabošanai. Pēdējos gados novērojama pākšaugu sējplatību palielināšanās.

Pākšaugu iekļaušana augu maiņā ir ļoti vēlama vairāku iemeslu dēļ. Gumiņbaktērijas piesaista slāpekli, tādējādi samazinot nepieciešamību lietot minerālmēslus. Pākšaugiem raksturīga spēcīga sakņu sistēma, kas irdina augsni, tāpēc pākšaugu iekļaušana augu maiņā ir ļoti vēlama. Augstā proteīna (17–40%), minerālvielu (Ca, Zn, Fe) un vitamīnu satura dēļ pākšaugu sēklas ir viena no svarīgākajām izejvielām lopbarības ražošanā (Stagnari, et al., 2017). Pākšaugos esošais proteīns, aminoskābes, oglehidrāti un šķiedrvielas veido sulīgu, viegli sagremojamu lopbarību lauksaimniecības dzīvniekiem, nodrošinot to pilnvērtīgu attīstību, kā arī paaugstina saražoto produktu apjomus un palielina to vērtību. Zināmākie un plašāk audzētie pākšaugi Latvijā ir lauka pupas (*Vicia faba*) un zirņi (*Pisum sativum*), nelielās platībās sastopama arī šaurlapu lupīna (*Lupinus angustifolius*) un soja (*Glucine max*).

Palielinoties pākšaugu, tajā skaitā lauka pupu, sējplatībām, pieaug arī augu slimību risks. *Botrytis* ģints sēnes pākšaugiem ierosina nozīmīgas lapu plankumainības, tostarp lauka pupām. Brūnplankumainība ir postīga lauka pupu slimība visā pasaulē, arī Latvijā, taču Magribas reģionā (Lībija, Tunisija, Alžīrija, Maroka) ražas zudumi lauka pupām bijuši ļoti lieli (60–80%), tāpat zudumi novēroti arī citās valstīs (Bouhassan et al., 2004; Lindbeck et al., 2009; Bankina et al., 2021). *B. cinerea* pazīstams arī kā pelēkās puves ierosinātājs (Tivoli et al, 2006).

Lauka pupām raksturīgās slimības pazīmes ir brūni plankumi, kas sākotnēji biežāk novērojami uz auga apakšējām lapām, spēcīgas infekcijas gadījumā slimība bojā arī ziedus un pākstis, reizēm uz bojātajām augu daļām novērojami sklerociji. Citiem pākšaugiem *Botrytis* spp. ģints sēņu radītie bojājumi nav tik raksturīgi, tomēr bieži novērojami.

Latvijā veiktajā pētījumā konstatēts, ka inficēšanās var būt kompleksa. Tas nozīmē, ka slimību ierosina vairākas *Botrytis* sugas – *Botrytis cinerea*, *Botrytis pseudocinerea*, *Botrytis faba* un *Botrytis fabiopsis*, iespējams, arī citas (Zhang et al., 2010; Brauna-Morževska, Bankina, Kaņeps, 2019).

Literatūrā minēts, ka *Botrytis* spp. var inficēt arī lēcas, turku zirņus, sējas zirņus un lupīnu. Šī iemesla dēļ ir būtiski saprast, cik plašs ir katras *Botrytis* sugas saimniekaugu loks un vai tās spēj inficēt arī citus pākšaugus (Brauna-Morževska, Bankina, Kaņeps, 2019).

Pētījuma mērķis ir noskaidrot *Botrytis* sugu patogenitāti dažādiem pākšaugiem – lauka pupām (*Vicia faba*), sējas zirņiem (*Pisum sativum*), šaurlapu lupīnai (*Lupinus angustifolius*) un sojai (*Glucine max*).

Materiāli un metodes

Pētījums veikts Augsnes un augu zinātņu institūta (AAZI) Augu patoloģijas zinātniskajā laboratorijā mākslīgās inokulācijas fonā. Inokulācijai izmantoti laboratorijas kolekcijā esošie 20 *Botrytis* sugu – *B. pseudocinerea*, *B. fabae*, *B. cinerea*, *B. fabiopsis* – izolāti, kuru identifikācija veikta ar molekulāri-ģenētiskajām metodēm Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā. Izolāti iegūti no dažādiem kultūraugiem – lauka pupām, sarkanā āboliņa, lupīnas, turku zirņiem un dārza pupiņām.

Patogenitātes testā izmantotas divas lauka pupu šķirnes – ‘Laura’, ‘Lielplatone’, divas zirņu šķirnes – ‘Dolores’, ‘Florida’, trīs šaurlapu lupīnas šķirnes – ‘Sonet’, ‘Lejaskurzeme’, ‘Probor’, kā arī divas sojas šķirnes – ‘Laulema’, ‘Skulptor’.

Pākšaugi audzēti siltumnīcā, un patogenitātes testa veikšanai ievāktas to lapas 35. AE. Inokulēšanai izmantoti 5 mm Ø agara diski ar sēņu micēliju no iepriekš minētajiem *Botrytis* spp. izolātiem (1. att.). Pēc inokulēšanas paraugi ievietoti klimata kamerā (temperatūra 20 °C) uz trīs diennaktīm jeb 72 h. Ik pēc 24 h tika mērīts plankumu diametrs (mm), kas kopumā veikts trīs reizes. Izmēģinājumā noteikta *Botrytis* spp. ģints sēņu patogenitāte un augšanas ātrums (agresivitāte).

Rezultāti un diskusijas

Patogenitāte parāda slimības ierosinātāja spēju inficēt noteiktus saimniekaugus vai to šķirņu grupas, bet agresivitāte raksturo inficēšanās ātrumu un/vai iespējamo slimības attīstības pakāpi.

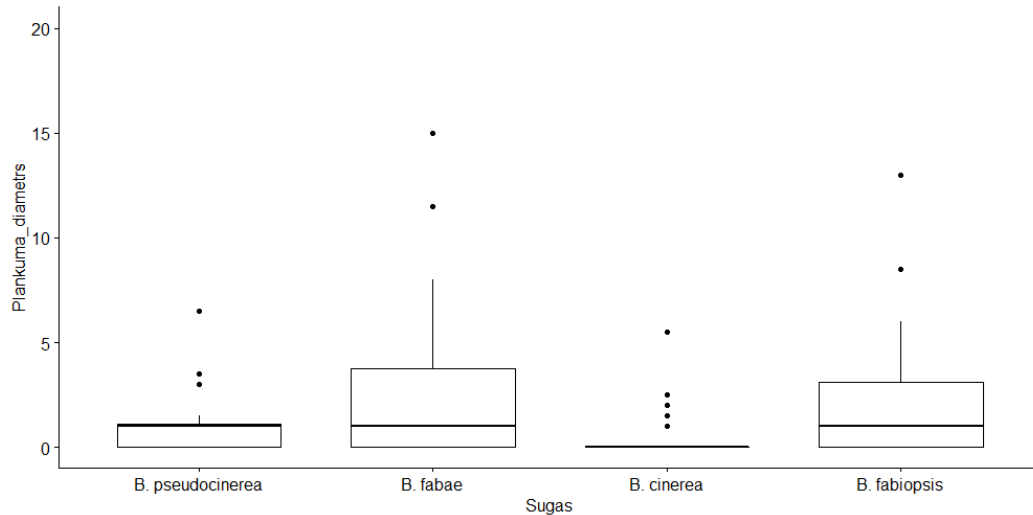
B. cinerea, *B. pseudocinerea*, *B. fabae* un *B. fabiopsis* *in vitro* inficēja visus eksperimentā izmantotos pākšaugus. Tas nozīmē, ka ir iespējama patogēna “pārceļošana” no viena tauriņzieža uz otru.

Inficēšanās ātrumu ietekmēja katra izolāta īpašības, tomēr vidējie rādītāji pierāda, ka agresivitāte ir atkarīga no patogēna sugas. Vieni un tie paši izolāti atšķirīgi inficēja dažādus saimniekaugus (1. att.), taču atšķirības starp šķirnēm netika novērotas.



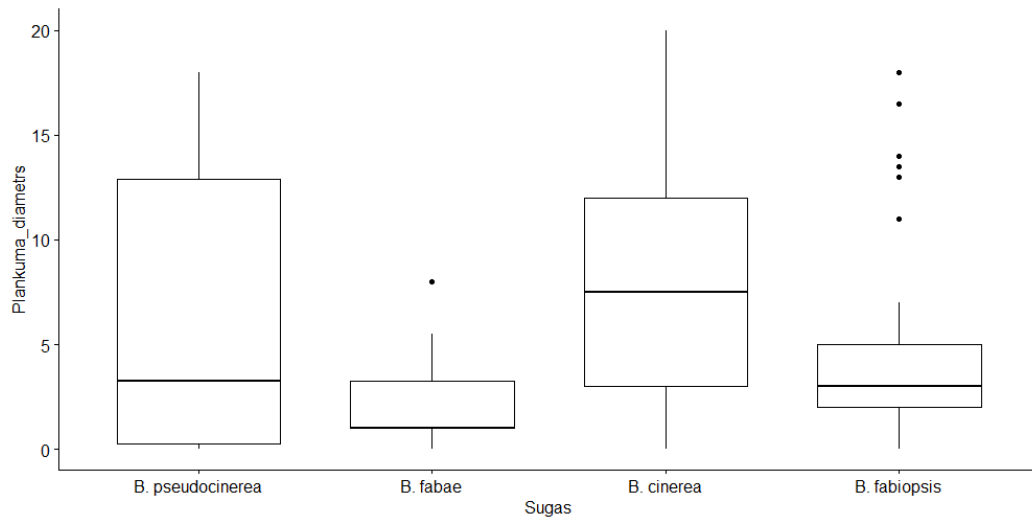
1. att. *Botrytis* spp. patogenitātes testa rezultāti pēc 72 h zirņiem un sojai.
Fig. 1. Pathogenicity test results of *Botrytis* spp. after 72 h, on peas and soybeans.

Atšķirīgo agresivitāti, iespējams, ietekmē arī izolātu izcelsme – respektīvi, augs, no kā tie iegūti. Kolekcijā esošie *Botrytis* izolāti galvenokārt iegūti no inficētām lauka pupām. Līdz ar to arī *in vitro*, veicot mākslīgo inokulēšanu, novērots, ka visi izolāti inficē lauka pupas (2. att.). *B. fabae* un *B. fabiopsis* bija agresīvāki nekā citi, būtiska atšķirība novērota ($p = 0.0005$) starp minētajām sugām un *B. pseudocinerea*. Tas ir skaidrojams ar *B. fabae* un *B. fabiopsis* šaurāku specializāciju – var inficēt mazāku saimniekaugu loku (Brauna-Morževska, Bankina, Kaņeps, 2019).



2. att. *Botrytis* spp. sugu virulence lauka pupām.
 Fig. 2. *Botrytis* spp. species pathogenicity to field beans.

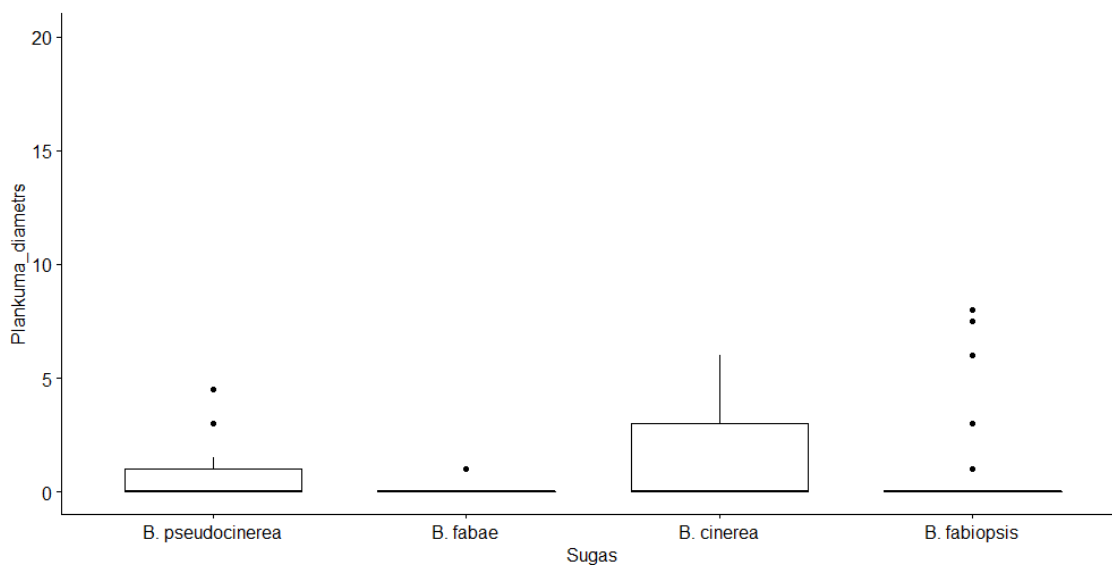
Salīdzinot izolātu agresivitāti attiecībā uz zirņiem, jāsecina, ka to augšanas ātrums bija lielāks, nekā tas novērots, inokulējot lauka pupu lapas (3. att.).



3. att. *Botrytis* spp. sugu virulence zirņiem.
 Fig. 3. *Botrytis* spp. species pathogenicity to peas.

Lielāka agresivitāte (lielāks augšanas ātrums) novērojama *B. pseudocinerea* un *B. cinerea* izolātiem. Minētie izolāti bija agresīvāki arī attiecībā pret lupīnu. Tas skaidrojams ar plašo saimniekaugu loku, kuru var inficēt minētie patogēni. Kā zināms, *B. cinerea* ir plaši izplatītās pelēkās puves ierosinātājs (Tivoli et al, 2006). Matemātiski salīdzinot, būtiskas atšķirības ($p = 0.0005$) novērojamas starp *B. pseudocinerea* un *B. fabae*. Savukārt *B. fabiopsis* izolātu vidū iespējams konstatēt ļoti lielu izkliedi – daži no izolātiem bija agresīvāki nekā citi (sugas robežās), tāpēc pētījumi ir jāturpina.

Arī soja bija viens no pākšaugiem, kurš tika iekļauts izmēģinājumā. Tomēr šajā gadījumā, kaut arī inficēšanās tika novērota, tā bija zemāka nekā citiem inokulētajiem pākšaugiem (4. att.).



4. att. *Botrytis* spp. sugu virulence sojai.
Fig. 4. *Botrytis* spp. species pathogenicity to soy.

Iegūtie rezultāti ir vērtējami kā pretrunīgi, tāpēc nepieciešams turpināt pētījumus, lai turpinātu skaidrot atšķirības patogenitātē un agresivitātē, ko ietekmē gan patogēna suga, gan izolātu izcelsme, gan saimniekaugs. Pēdējo gadu laikā šāda veida pētījumi pasaulē ir aktuāli, jo sniedz iespēju izvērtēt iespējamās inficēšanās avotus un patogēnu izplatības īpatnības. Būtiski ir turpināt patogēnu daudzveidības pētījumus, jo pēdējā laikā īstenotie pētījumi pierāda, ka iespējamais sugu loks ir plašāks, nekā tika uzskatīts agrāk (Bankina et al., 2021).

Secinājumi

1. *B. cinerea*, *B. pseudocinerea*, *B. faba* un *B. fabiopsis* ir patogēni lauka pupām, zirņiem, šaurlapu lupīnai un sojai.
2. *B. cinerea* un *B. pseudocinerea* ir agresīvi pret zirņiem un šaurlapu lupīnu, savukārt *B. faba* un *B. fabiopsis* – lauka pupām.
3. *B. cinerea*, *B. pseudocinerea*, *B. faba* un *B. fabiopsis* ir patogēni sojai, taču to agresivitāte ir zema – inficēšanās ir iespējama, tomēr saslimšana notiek lēni.
4. Eksperimentu nepieciešams atkārtot, lai iegūtu precīzus datus, paplašinot izolātu loku, jo dažādu izolātu agresivitāte atšķirās.

Pateicība. Pētījums veikts LZP granta „*Botrytis* spp., nozīmīga pākšaugu slimību ierosinātāja, patogenitāte un diversitāte” ietvaros.

Izmantotā literatūra

1. Bankina B., Stoddard F., Kaņeps J., Brauna-Morževska E., Bimšteine G., Neusa-Luca I., Roga A., Fridmanis D. (2021). *Botrytis* four species are associated with chocolate spot disease of faba bean in Latvia. *Zemdirbyste-Agriculture*. 108. 297–302. 10.13080/z-a.2021.108.038.
2. Bouhassan A., Sadiki M., Tivoli B. (2004), Evaluation of a collection of faba bean (*Vicia fabae* L.) genotypes originating from the Maghreb for resistance to chocolate spot (*Botrytis fabae*) by assessment in the field and laboratory. *Euphytica*, 135 pp. 55–62.
3. Brauna-Morževska E., Bankina B., Kaņeps J. (2019). *Botrytis* genus fungi as causal agents of legume diseases: a review. *Proceedings of 25th international scientific conference Research for Rural Development 2019*, vol. 2, p. 63–69.

4. Lindbeck K. D., Bretag T. W., Ford R. (2009). Survival of *Botrytis* spp. on infected lentil and chickpea trash in Australia. *Australas. Plant Pathol.* 38, 399–407.
5. Stagnari F., Maggio A., Galieni A., Pisante M. (2017). Multiple benefits of legumes for agriculture sustainability: An overview. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture.* 4(2).
6. Tivoli B., Baranger B., Avila A., Banniza C., Barbetti S., Chen M., Davidson W., Lindeck J., Kharrat K., et al. (2006). Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes. *Euphytica.* 147. 223–253.
7. Zhang J., Wu M. D., Li G. Q., Yang L., Yu L., Jiang D. H., Zhuang W. Y. (2010). *Botrytis fabiopsis*, a new species causing chocolate spot of broad bean in central China. *Mycologia.* 102(5), 1114–1126.