

OKUŽBA SEMENSKIH POSEVKOV OZIMNEGA JEČMENA IN SEMENA V PROMETU Z JEČMENOVO GOLO SNETJO (*Ustilago nuda* [Jens.] Rostr.) V SLOVENIJI V LETIH 1995 IN 1996

Metka Žerjav¹, Romana Rutar¹

IZVLEČEK

Okužbo z ječmenovo golo snetjo (*Ustilago nuda* [Jens.] Rostr.) smo ugotavljali na 33 vzorcih semena ozimnega ječmena sort robur, plaisant, rex in alpha, pridelanega v letih 1995 in 1996. Opisujemo metodo uporabljeno za testiranje embrijev. Pregled je pokazal, da je bila sorta robur najbolj okužena. Micelij glive smo našli v vseh vzorcih. Okužba embrijev je bila 0,2 do 2,6 %. Pri sorti rex ni bil okužen nobeden od pregledanih vzorcev. Večje število snetljivih klasov na kontrolni enoti, ugotovljeno pri potrjevanju semenskih posevkov, se je odražalo na močnejši okužbi pridelanega semena, vendar je bilo število vzorcev premajhno za določitev funkcijske povezave. Obravnavana je povezava med okužbo testiranih embrijev in pojavom snetljivih klasov po setvi pregledanega semena na polju.

Ključne besede: ječmenova gola snet, ječmen, semenski posevki, testiranje semena

ABSTRACT

LOOSE SMUT INFECTION (*Ustilago nuda* [Jens.] Rostr.) IN THE SEED CROPS AND IN CERTIFIED SEED OF WINTER BARLEY IN SLOVENIA IN 1995 AND 1996

Loose smut infection (*Ustilago nuda* [Jens.] Rostr.) in certified seed of winter barley was determined for 33 seed samples of cultivars Robur, Rex, Plaisant and Alpha, produced in 1995 and 1996. The method used for testing embryos is described. The cultivar Robur was the most infected and the presence of mycelium was detected in all samples. The range of infection was 0,2% to 2,6 %. The cultivar Rex was not infected at all. There was certain connection between the number of infected ears in the seed crops and the infection of seed samples but the number of samples was not sufficient to determine functional relation. The relationship between the levels of seed infection, as revealed by the embryo test and the production of diseased ears in the field is discussed.

Key words: barley, seed crops, seed testing, *Ustilago nuda*

1 UVOD

V letih 1994-1996 je bilo v Sloveniji opazno povečanje okužbe posevkov ječmena z ječmenovo golo snetjo. V nekaterih semenskih posevkih, kjer se pri zdravstvenem pregledu ugotavlja odstotek okuženih klasov, je bila v letu 1996 okužba večja kot jo dopušča Pravilnik o obveznem zdravstvenem pregledu posevkov ... (Ur. l. SFRJ, št.52/1986) in posevki niso bili potrjeni kot semenski. Izločeni so bili le posevki sorte robur. Zaradi okužbe s snetjo je bila v letu 1996 izločena četrtnina posevkov prijavljenih za pridelovanje semena (Semenarske informacije za leto 1996-žita, 1996). Vzrokov, ki so privedli do tega, je lahko več, vsekakor pa jih lahko iščemo predvsem v biotičnih značilnostih okuženih rastlin in glive ter v vremenskih razmerah med

¹ Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

cvetenjem ječmena, kajti način pridelovanja in kontrole semenskega ječmena je že vrsto let nespremenjen.

Ječmenova gola snet (*Ustilago nuda* [Jensen] Rostrup) je razširjena v vseh pridelovalnih območjih ječmena po svetu, a bolj v območjih z visoko vlažnostjo in obilnejšimi padavinami. Od ene do druge rastne dobe gliva preživi le kot dormantni micelij v embriju ječmenovega semena. Ko seme kali, se gliva aktivira in raste proti rastnemu vrhu rastline in naseli semenske zasnove. Tkiva klasa so intracelularno preraščena z micelijem, ki se med klasenjem in cvetenjem ječmena spremeni v teliospore, ki jih raznaša veter. Odrpti cvetovi na sosednjih rastlinah se okužijo skozi brazdo pestiča ali skozi steno plodnice in micelij intercelularno raste v razvijajočem se embriju (Compendium on Barley Diseases, 1992).

Kjer sta postopek potrjevanja semenskih posevkov in razkuževanje z ustreznim sistemičnim fungicidom pravilno opravljena, ječmenova gola snet ne povzroča omembe vredne škode, lahko pa povzroča težave pri pridelovanju semena zaradi predpisov o zdravstvenem stanju. Merilo kakovosti semena ječmena je poleg sorte čistosti, ustrezne kalivosti in čistote tudi zdravstveno stanje semena. Ker je okuženo seme edini vir za širjenje bolezni, so zdravstveni pregledi semenskih posevkov ječmena in ugotavljanje števila snetljivih klasov na polju med klasenjem in cvetenjem pomembni za predvidevanje morebitne okužbe semena, toda dejanske okužbe pridelanega semena tako ni mogoče ovrednotiti.

S snetjo okuženo seme se na pogled ne razlikuje od zdravega. Tudi z analizo zdravstvenega stanja na vlažnem filter papirju, ki se rutinsko izvaja pri kontroli kakovosti semena v laboratoriju, okužbe ni mogoče ugotoviti. Za ugotavljanje okužbe semena se uporabljajo metode, pri katerih je potrebno iz semena izločiti embrije in jih po ustrezni obdelavi, s katero se doseže dobra vidljivost micelija, pregledati pod povečavo. Kjer ni fiziološke rezistence ječmena je pravilno izveden postopek testiranja embrijev primeren za napoved infekcije na polju, ki jo lahko pričakujemo po setvi partij testiranega semena in omogoča izbor zdravih partij za nadaljnje razmnoževanje in tudi odločanje glede razkuževanja okuženih partij (Hewett, 1979).

2 MATERIALI IN METODE

Vzorci, ki smo jih pregledali zaradi ugotavljanja okuženosti z ječmenovo golo snetjo, so predstavljali partije dodelanega semena ozimnega ječmena sort rex, robur, alpha in plasant, pridelane v Sloveniji, v letih 1995 in 1996 in nekatere uvožene partije sorte plasant. Pregledovali smo tudi zrnje nekaterih nepotrjenih semenskih posevkov sorte robur. Z vzorci iz leta 1996 smo skoraj v celoti zajeli semensko pridelavo omenjenih sort v Sloveniji. Vzorce semena so odvzeli sodelavci Inšpektorata RS za kmetijstvo, vzorčevalcev s Kmetijskega inštituta Slovenije in samih pridelovalcev. Okuženost vzorcev smo ugotavljali z laboratorijsko metodo pregledovanja embrijev.

Potrjevalci so posevke semenskega ječmena pregledovali dvakrat. Prvi pregled so opravili ob končani klasitvi, drugega, ko so bile rastline v voščeni zrelosti. Na kontrolni enoti 100 m²/ha so prešteli število snetljivih klasov.

Micelij glive *Ustilago nuda* smo določali z metodo, ki sta jo opisala Rennie in Seaton leta 1975 in je od leta 1981 tudi metoda, ki jo predlaga ISTA (International seed testing association). Metodo smo po pregledu ostale literature in osebnih pogovorih nekoliko prilagodili in analizo izvedli po postopku, kot ga opisujemo.

Preglednica 1: Število vzorcev pregledanih z metodo embrijev
Table 1: Number of seed samples tested with embryo method

Sorta	1995		1996	
	Št. potrjenih posevkov	Št. vzorcev	Št. potrjenih posevkov	Št. vzorcev
Robur	7	4	2	10
Plaisant	3	1	1	7
Alpha	2	2	2	2
Rex	4	0	8	7
Druge sorte	4	0	3	0
Skupaj	20	7	16	26

Namakanje in barvanje: 100 g ječmena smo namočili v 1 liter 5% NaOH in 22 ur pustili pri temperaturi 20-22 °C.

Ekstrakcija embrijev: Embrije smo od endosperma odvajali z vročo vodo (60-65°C) in sit treh različnih dimenzij (3,5 mm, 2,0 mm, 1 mm) in jih po spiranju zbrali na situ 1 mm.

Dehidracija: Embrije smo zbrali v manjšem cedilu in jih dehidrirali 2 minuti v metanolu.

Ločevanje: Dehidrirane embrije smo prestavili v steklen lij s stiščkom ter dodali približno 200 ml mešanice laktofenola in destilirane vode v razmerju 3:1. Laktofenol smo pripravili iz 20 g fenola, 20 g mlečne kisline, 40 g glicerina in 20 ml destilirane vode. V raztopini so splavali embriji na površje, nečistoče pa so potonile, zaradi česar smo jih lahko ločili v čašo. Postopek ločevanja smo nekajkrat ponovili in tako dobili čiste embrije.

Prsvetljevanje: Očiščene embrije smo prestavili v laboratorijsko čašo 200 ml, dodali 75 ml čistega laktofenola in jih pustili zavreti, da so postali prozorni.

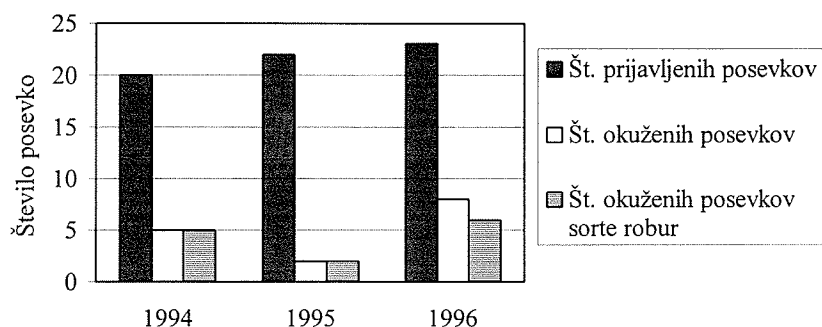
Delo z laktofenolom smo opravljali v digestoriju zaradi strupenosti hlapov fenola. Embrije smo pripravili za pregled tako, da smo od ohlajenih embrijev odcedili laktofenol in jih v petrijevki prelili z glicerolom, da se je zmanjšalo izhlapevanje fenola.

Metoda določa, da je za pregled potrebno 1000 embrijev, ki jih pri pravilno izvedenem postopku iz 100 g semena dobimo brez težav. Pregled smo izvedli s stereomikroskopom z osvetlitvijo pod preparatom, pri povečavi 18-25x. Embriji z rumeno-rjavim micelijem, ki se najpogosteje razrašča v skutelumu, lahko pa tudi v plumuli, so dobro vidni in jih ločimo od zdravih. V primeru, ko je micelij sestavljen le iz nekaj hif ali netipičnega videza, pogledamo preparat še z mikroskopom pri večji povečavi. Micelij ima septirane in razvejane hife s karakterističnimi odebelitvami. Prešteli smo embrije z micelijem in neokužene embrije ter izračunali odstotek okuženosti.

Postopek smo poskusno izvedli tudi z barvanjem embrijev z barvilom trypan modro. Micelij je bil temnejši in bolje viden, vendar to ni vplivalo na rezultat pregleda.

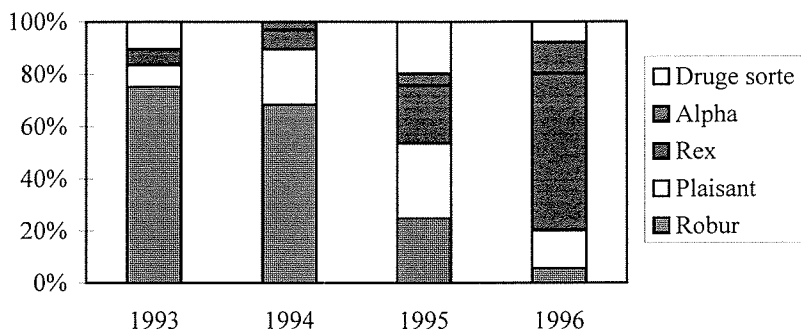
3 REZULTATI Z DISKUSIJO

Na podlagi zapisnikov o zdravstvenem pregledu semenskih posevkov smo za obdobje 1994-1996 ugotovili število prijavljenih posevkov in število posevkov, ki so bili ob zdravstvenem pregledu na polju okuženi (vsaj en snetljiv klas na kontrolni enoti).



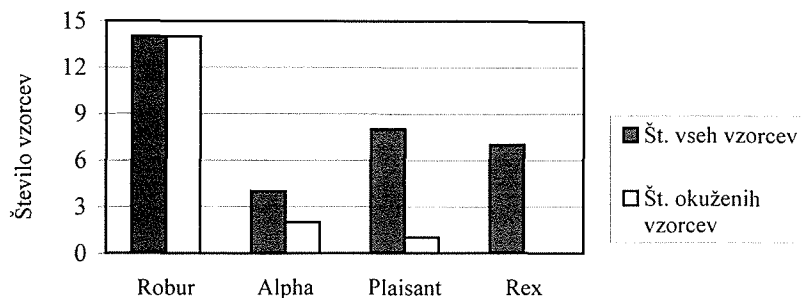
Slika 1: Število semenskih posevkov okuženih z ječmenovo golo snetjo
Figure 1: Number of seed crops infected with loose smut of barley

Med okuženimi posevki so bili vsa tri leta večinoma le posevki sorte robur. S sorto robur je bilo v letih 1993 in 1994 posejanih več kot dve tretjini njiv namenjenih pridelovanju semena ozimnega ječmena. V letu 1995 se je površina zmanjšala zaradi novih proizvodno uspešnejših sort, k zmanjšanju površine potrjenih posevkov pa je v letu 1996 prispevala tudi okužba posevkov z golo ječmenovo snetjo (slika 2).



Slika 2: Sortna sestava semenskih posevkov ozimnega ječmena v Sloveniji
Figure 2: Cultivars of winter barley in seed production in Slovenia

Analiza z metodo embrijev je pri vzorcih semena, pridelanega v letih 1995 in 1996, pokazala, da je tako kot pri posevkih na polju, najbolj okuženo seme sorte robur, saj so bili okuženi vsi pregledani vzorci (slika 3). Okužba je nihala med 0,2% in 2,6%. Seme sort rex in plaisant pridelano v Sloveniji ni bilo okuženo, okužen je bil le en vzorec sorte plaisant iz uvoza a z zelo majhno okužbo 0,1%. Dva vzorca semena sorte alpha sta bila okužena, vendar je bila okužba le 0,2 %. Pri majhnih okužbah 0,1% ali manj opisana metoda ni več zanesljiva, zato je potrebno pregledati 2000-3000 embrijev ali uporabiti metodo encimatske razgraditve ekstrahiranih embrijev s celulazo, pektinazo in hemicelulazo gliv *Aspergillus* (Hewett in Damgaci, 1986). Z metodo encimske razgraditve lahko samo potrdimo zastopanost micelija, odstotka okuženih semen pa ne moremo ugotoviti.



Slika 3: Število pregledanih in število okuženih vzorcev semena
Figure 3: Number of tested and infected seed samples

Primerjava števila snetljivih klasov na polju z okužbo pridelanega semena je bila možna le pri semenu pridelanem v Sloveniji, saj za uvoženo seme ni podatkov o zdravstvenem stanju na polju. Primerjavo smo naredili tudi za nekatere prijavljene posevke, ki niso bili potrjeni. V preglednici 2 navajamo le podatke za posevke, ki so bili okuženi na polju ali pa je bilo okuženo pridelano seme.

Pri okužbi z golo snetjo gre večinoma za reinfekcijo v posevku. Vir okužbe so lahko tudi bližnji posevki, a je prenos spor na splošno omejen z razdaljo 200 m od okužene rastline, kot je ugotovil Oort, 1940 (citirano po Dhitaphichit in Jones, 1991). Okužba semena je odvisna od števila snetljivih klasov, ki je tudi merilo za potrjevanje posevka, vendar zaradi številnih dejavnikov, ki vplivajo na širjenje okužbe povezava ni zanesljiva podlaga za napoved okuženosti. V nekaterih rastnih dobah, ko pride do močne reinfekcije v posevku in se bolezen razmnoži s faktorjem 10 ali več, lahko že majhno število snetljivih klasov omogoči močno okužbo semena (Hewett in Damgaci, 1986), nasprotno pa je lahko v nekaterih letih, kljub precejšnjemu številu snetljivih klasov v posevku, okužba semena majhna.

Preglednica 2: Okužba nekaterih semenskih posevkov in partij semena pridelanega v Sloveniji z ječmenovo golo snetjo
Table 2: Loose smut infection of some seed crops of barley and infection of seed lots produced in Slovenia

Posevek	Štev. snetljivih klasov na 100 m ²	Štev. pregledanih vzorcev	Povprečna okužba semena v %
1996			
Robur	47	1	2,6
Robur	44	2	0,9
Robur	40	1	0,2
Robur	4	1	0,5
Alpha	1	1	0
1995			
Robur	10	2	1,0
Robur	6	2	1,0
Alpha	0	2	0,2

Za širjenje glive so vremenske razmere med cvetenjem zelo pomembne. Za infekcijo je najbolj ugodno vetrovno, hladno in deževno vreme. Tkivo plodnice je občutljivo za infekcijo še 4 do 8 dni po opravitvi (Compendium of Barley Diseases, 1992).

Veter in dež vplivata na sproščanje in razširjanje spor. Z dežnimi kapljami se spore lažje prebijejo mimo plev ječmenovih cvetov do plodnice. Temperatura in vlaga vplivata na kalitev spor, nizke temperature pa tudi podaljšajo čas cvetenja ječmena in s tem obdobje, ko so klasi dovzetni za okužbo (Wray in Pickett, 1985).

Razlog za močnejšo okužbo semenskih posevkov sorte robur, ki se je pokazala v letu 1996, so tudi vremenske razmere v letu 1995. Med cvetenjem ječmena (večina posevkov je cvetela med 25. majem in 5. junijem) je bilo veliko padavinskih dni, temperature pa so bile nižje, kot je običajno za to obdobje.

Preglednica 3: Vremenske razmere med cvetenjem ozimnega ječmena v letih 1994-1996
Table 3: Some weather parameters at the time of winter barley flowering in the years 1994-1996

Obdobje	Ljubljana			Murska Sobota			Novo mesto		
	RR (mm)	P.D.	T povp.	RR (mm)	P.D.	T povp.	RR (mm)	P.D.	T povp.
1994									
maj III.	69,7	8	17,3	30,2	7	17,3	31,8	6	17,4
junij I.	69,1	3	17,7	43,2	4	17,2	41,5	3	17,3
1995									
maj III.	0,7	2	17,6	35,3	4	18,1	11,0	3	17,5
junij I.	65,8	8	15,9	51,6	7	16,7	63,4	9	15,9
1996									
maj III.	38,2	4	16,5	50,9	7	15,8	48,7	4	16,3
junij I.	0	0	23,1	0	0	22,1	0	0	22,6

Poleg opisanih vzrokov lahko k porastu okužbe prispeva tudi nezadostna učinkovitost fungicidov za razkuževanje semena, bodisi zaradi napak pri postopku nanašanja na seme ali zaradi pojava odpornih ras glive. Leta 1985 so v Franciji izolirali za karboksinske tolerantne rase glive *U. nuda*, poznejše raziskave z izolati različnega geografskega izvora pa so obstoj odpornih ras v Evropi še potrdile (Dhitaphichit in Jones, 1991; Newcombe in Thomas, 1991). Zastopanost rezistentnih ras glive v Sloveniji ni izključena (večletna neprekinjena uporaba karboksina, uvoz semena), vendar z raziskavami še ni bila potrjena.

Pri primerjavi okužbe semena, ki je bila ugotovljena z metodo testiranja embrijev in pojava ječmenove gole sneti v semenskih in drugih posevkih po setvi testiranega semena, sta Rennie in Seaton (1975) dobila visoke korelacijske koeficiente. Obseg izraženih simptomov na polju se lahko spreminja pod vplivom dejavnikov okolja in verjetno tudi sorte. Povprečno se vsak odstotek povečanja okužbe semena izrazi kot 0,7% povečanje okužbe klasov na polju. Kljub temu, da metoda ne napoveduje natančno kakšna bo okužba na polju po setvi testiranih partij semena, daje boljšo oceno od poljskega pregleda posevka. Hewett, (1980), je med okužbo testiranih embrijev in številom okuženih klasov na polju ugotovil korelacijski koeficient 0,91. Omenjene ugotovitve veljajo za seme, ki ni bilo tretirano s sistemičnimi fungicidi.

4 SKLEP

Vzrok za povečanje okužbe semenskih posevkov z ječmenovo golo snetjo v letu 1996 so bile predvsem za razvoj bolezni ugodne vremenske razmere v letu pred tem in razširjenost pridelovanja za bolezen občutljive sorte robur. Ker se bolezen širi predvsem z reinfekcijo v posevku, sklepamo, da je bilo tudi v seme višjih kategorij stalno nekoliko okuženo in se je v procesu razmnoževanja, okužba v ugodnih razmerah, povečala prek sprejemljivih vrednosti. Z metodo testiranja embrijev lahko ugotovimo kakšna je okužba pridelanega semena, kar omogoča izločitev prekomerno okuženih partij iz prometa in odločanje o izboru razkužila za seme. Nadzor okužbe s snetjo bi bil potreben predvsem pri višjih vzgojnih stopnjah semenskega ječmena namenjenega za nadaljnje razmnoževanje in v primerih, ko glede na okužbo klasov ugotovljeno pri potrjevanju posevkov, obstaja tudi možnost močne okuženosti semena.

5 LITERATURA

- Mathre D. E., 1992, Compendium on Barley Diseases.- The American Phytopathological Society.
- Dhitaphichit, P./Jones, P. 1991. Virulent and fungicide tolerant races of loose smut (*Ustilago nuda* and *Ustilago tritici*) in Ireland.- Plant Pathology, 1991, vol. 40, 4, s. 508-514.
- Hewett, P./Damagaci, E. 1986. A new procedure to detect a low incidence of *Ustilago nuda* in seed barley.- Plant Pathology, 1986, vol. 35, 3, s. 377-379.
- Hewett, P. D. 1980. Loose smut in winter barley: comparisons between embryo infection and the production of diseased ears in the field.- Journal of the National Institute of Agricultural Botany, 1980, vol. 15, 2, s. 231-235.
- ISTA Handbook on Seed Health Testing, 1981, working sheet no. 25.
- Newcombe, G./Thomas, P. 1991. Incidence of carboxin resistance in *Ustilago nuda*.- Phytopathology, 1991, vol. 81, 3, s. 247-250.
- Pravilnik o obveznem zdravstvenem pregledu posevkov in objektov, semena in sadilnega materiala kmetijskih in gozdnih rastlin.- 1986. Uradni list SFRJ, 1986, 52, s. 1545
- Rennie W. J./Seaton, R. D. 1975. Loose smut of barley. The embryo test as a means of assessing loose smut infection in seed stocks.- Seed Science and Technology, 1975, vol. 3, 3-4, s. 697-709.
- Wray, M. W./Pickett, A. A. 1985. Trends in loose smut (*Ustilago nuda*) infections in certified seed of barley in England and Wales.- Journal of the National Institute of Agricultural Botany, 1985, vol. 17, 1, s. 31-40.