

PRVA NAJDBA GLIVE *Verticillium dahliae*, POVEZANE Z OVENELOSTJO POGANJKOV OLJK V SLOVENSKI ISTRI

Marko DEVETAK¹, Sara HOBLAJ², Matjaž JANČAR³, Hans-Josef SCHROERS⁴, Urša PRISLAN⁵, Eva KOVAČEČ⁶, Janja ZAJC⁷

¹⁻³Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica, Oddelek za varstvo rastlin, Pri hrastu 18, SI-5000 Nova Gorica;

⁴⁻⁷Kmetijski Inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

Uvod

Po najdbi okužene oljke z lesno glivo *Phaeoacremonium scolyti* leta 2021 v okolici Seče (Devetak *et al.*, 2022) je v letih 2022 in 2023 v sodelovanju med Oddelkom za varstvo rastlin KGZS - Zavod Nova Gorica in Oddelkom za varstvo rastlin Kmetijskega Inštituta Slovenije potekala raziskava v kateri se je vzorčilo drevesa oljk (*Olea europaea*) z bolezenskimi znamenji venenja in sušenja poganjkov. Podobno kot pri drugih sadnih vrstah namreč tudi v slovenskih oljčnikih občasno opažamo rastline s prej omenjenimi bolezenskimi znamenji, ki jih tuja literatura pripisuje glivičnim boleznim koreninskega sistema oz. koreninskega vratu. Za omenjene patogene je značilno, da prizadenejo prevodni sistem rastline, kar se odraža v sušenju posameznih vej ali v postopnem propadanju celotne rastline. Leta 2023 so bili na območju Slovenske Istre vzorčeni različni oljčni nasadi; na štirih lokacijah je bila izolirana gliva *Verticillium dahliae* Kleb. Endofit je poznan kot povzročitelj verticilijske uvelosti oljk (Montes-Osuna, N. in Mercado-Blanco, J., 2020). Gre za polifagno glivo, ki povzroča gospodarsko škodo na dvesto gostiteljskih rastlinskih vrstah (Rhouma, *et al.*, 2023).

Mikoza, kot posledica verticilijske uvelosti oljk je bila prvič najdena v Italiji leta 1946 (Ruggieri, 1946, cit. po Levin, Lavee in Tsror (Lahkim), 2003), prisotna pa je tudi v drugih državah, kjer gojijo oljke kot so Španija (Caballero, *et al.*, 1980, cit. po López-Escudero, Mercado-Blanco, 2011) in Grčija (Zachos, 1963, cit. po López-Escudero, Mercado-Blanco, 2011). Gliva *V. dahliae* velja za najpomembnejšo talno glivo, ki ogroža pridelavo oljk (Jiménez-Díaz, *et al.*, 2012). V južnem delu Španije, ki je znan po intenzivnih oljčnih nasadih se organizem uvršča med pomembnejše glivične bolezni oljke (Fernández-Escobar *et al.*, 2013). Poznana sta dva izolata glive, in sicer patotip D (»defoliating«), ki povzroča defoliacijo ter patotip ND (»nondefoliating«), ki ne privede do odpadanja listov. Omenjena patotipa sta bila potrjena na bombažu in oljkah (Schnathorst, 1973, cit. po López-Escudero, del Rio, Caballero in Blanco-López, 2004).

Pojav mikoze je seveda povezan tudi z načinom pridelave oljk in sortnim izborom. Med bolj dovzetne sorte spadajo Picual in Arbequina, katere gojijo v intenzivnih oljčnikih z veliko gostoto sajenja (López-Escudero, *et al.*, 2004). Zanimivo je, da omenjeni avtorji med dovzetne sorte na patotip ND prištevajo tudi sorto Leccino, ki je pogosta tudi v naših oljčnikih. Goidànich (1990) ugotavlja, da je pojav verticilijske uvelosti oljk pogost tudi v namakanih nasadih ter na površinah, kjer se je predhodno gojilo različne gostiteljske rastline med katere uvrščamo tudi razhudnikovke.

Materiali in metode

V letih 2022 in 2023 smo vzorčili več oljčnikov na območju Slovenske Istre, Goriških Brd in Vipavske doline. Šlo je za nasade različnih starosti, kjer pridelovalci gojijo rastline po smernicah integrirane oz. ekološke pridelave. Skupno smo v obeh sezonah nabrali 27 vzorcev vej in poganjkov s simptomi venenja in sušenja ter plodov z znamenji gnitja.

Približno 2 mm velike koščke lesa z robov med nekrotičnim in zdravim lesom smo prenesli na agarna gojišča z antibiotikom in jih inkubirali pri sobni temperaturi. Izolate gliv, ki so izhajali iz koščkov lesa, smo pripravili kot enotrosne čiste kulture. Izolate, ki so bili podobni *Verticillium* sp. smo morfološko identificirali po Domsch et al. (2007). Identifikacije so bile potrjene z analizo črtne kode DNK, za katero smo ekstrahirali DNK, izbrane črtne kode pomnožili v reakciji s PCR in jih sekvencirali pri komercialnemu ponudniku te storitve (Macrogen Europe). Pridobili smo zaporedja delnih genov aktina (ACT) in transkripcijskega elongacijskega faktorja 1-alfa (TEF) ter notranjih transkribiranih distančnikov operona rRNA, vključno z jedrnim genom 5,8S rRNA (ITS), in jih primerjali z algoritmo blastn z zaporedji referenčnih podatkov v Genbank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Za pomnoževanje s PCR in sekvenciranje so bili uporabljeni začetni oligonukleotidi VActf/VActR (ACT), VEFf/ VEFr (TEF) (Inderbitzin, et al., 2011) in ITS5/ITS4 (ITS) (White, et al., 1990).



Slika 1: Poškodbe na poganjkih.

Rezultati

V letih 2022 in 2023 smo vzorčili več oljčnikov različnih starosti na območju Slovenske Istre, Goriških Brd in Vipavske doline. Vzorčili smo veje in poganjke s simptomi venenja in sušenja ter plodov z znamenji gnitja. Poleg vej smo dodatno vzorčili tudi plodove s simptomi venenja oz. gnitja, na katerih pa v raziskavi nismo določili specifičnih patogenih gliv.

Po zaključeni dvoletni raziskavi, v kateri smo opravili inventarizacijo gliv na oljki smo v Slovenski Istri na vzorcih štirih lokacij z morfološko in molekularno analizo potrdili pojav verticilijske uvelosti oljk, ki jo povzroča polifagna patogena gliva *Verticillium dahliae* Kleb. Za vzorčene rastline je bilo značilno venenje in rumenenje listov. Nekateri poganjki so postopoma veneli, na lesu pa so bila opazna znamenja poškodb oz. izjede. Pridobljena zaporedja TEF za tri od štirih sevov so bila enaka zaporedjem, deponiranim kot KM408511 in KM408515 iz *Olea europaea* v Tuniziji (Gharbi, et al.,

2015) vendar so se njihova zaporedja ACT na enem mestu razlikovala od tistih, ki jih je deponiral isti avtor (KM408501/9). Oba lokusa sta pokazala 100 % podobnost z različnimi izolati *V. dahliae* iz različnih gostiteljev in lokacij. Sekvence ITS so enako podprle identifikacijo vseh štirih pridobljenih sevov kot *V. dahliae*.

Verticilijska uvelost se manifestira skozi več značilnih simptomov, ki so lahko različno intenzivno izraženi. Prvi znaki vključujejo venenje listov in poganjkov, ki lahko postanejo suhi in rjavi. Na lubju prizadetih dreves se pogosto razvijejo rakave rane in nekroze, kar dodatno oslabi rastlino, pod lubjem se pojavi rjavkasta ali črna obarvanost lesa, kar kaže na prisotnost glive. Bolezenski znaki se lahko pojavljajo neenakomerno po drevesu, z nekaterimi vejami, ki so močno prizadete, medtem ko so druge lahko povsem zdrave. Prizadeta drevesa običajno obrodijo manj plodov, kar vpliva na količino in kakovost pridelka (Rhouma et al., 2023).

Glede na obseg pozitivnih vzorcev v oljčnikih trenutno ne moremo trditi, da prihaja do večjega pojava glivične bolezni, kljub temu pa je smiselno, da se v prihodnje še naprej spremlja pojav omenjene mikoze še posebej zaradi klimatskih sprememb, ki omogočajo ugodne pogoje za razmah okužb in pojava bolezenskih znakov. Dolgotrajna obdobja deževja spomladi in jeseni ustvarjajo idealne pogoje za širjenje bolezni, saj vlaga omogoča glivi, da se lažje razširi. Blage zime omogočajo preživetje glive v tleh in rastlinskih ostankih, kar vodi v večje tveganje za okužbo spomladi. Rastline, ki so izpostavljene stresnim razmeram, kot so suša ali poškodbe zaradi škodljivcev, pa so bolj dovzetne za okužbo z glivo (Rhouma et al., 2023).

Glede na rezultate študij, ki so potekale v Španiji namreč verticilijska uvelost oljk spada med pomembnejše glivične bolezni oljk in lahko privede do propadanja rastlin in posledično do izpada pridelka. Pojav bolezni je pogost v namakanih oljčnih nasadih, kjer se je predhodno gojilo razhudnikovke (Goidànich, G., 1990). Bolezen se lahko prenaša tudi z okuženim sadilnim materialom, substratom (zemljo), z vodo ali pa vstopa v rastlino skozi rane, ki nastanejo med rezjo oz. po mehanskih poškodbah tkiva.

Dodatno bi bilo smiselno celo izvesti teste patogenosti, s katerimi bi ovrednotili dovzetnost sort na okužbe s patogenom, predvsem tistih, ki se pojavljajo v naših oljčnikih kot je npr. Istrska Belica. Poznavanje tolerance oz. odpornosti sort bi namreč pomembno prispevala k obvladovanju glivične bolezni v primeru izbruhov, saj so nekateri tehnološki ukrepi kot je npr. solarizacija tal v naših pridelovalnih razmerah verjetno manj učinkoviti.

Sklepi

V letu 2023 smo v Slovenski Istri, potrdili prisotnost glive *Verticillium dahliae*, ki povzroča verticilijsko uvelost oljk. Simptomi te bolezni vključujejo venenje, sušenje poganjkov, rakave rane in nekroze na lubju ter zmanjšan pridelek. Čeprav trenutno ne moremo trditi, da je glivična bolezen verticilijska uvelost oljk močno razširjena, je pomembno nadaljnje spremljanje te bolezni zaradi klimatskih sprememb, ki lahko ustvarijo ugodne pogoje za njeno napredovanje in širjenje. Za učinkovito obvladovanje bolezni bi bilo smiselno ovrednotiti dovzetnost različnih sort oljk na okužbe s tem patogenom.

Datum: marec 2024

Viri

- Devetak, M., Jančar, M., Hoblaj, S., Žežlina, J., Žerjav, M., Zajc, J., Schroers, H., J., 2022. Prve najdbe gliv povzročiteljic bolezni lesa na oljkah v Slovenski Istri. Zbornik predavanj in referatov 15. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Portorož, 1.-2. Marec 2022. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 2022: 124-128.
- Domsch, K., H., Gams, W., Anderson, T., H., 2007. Compendium of Soil Fungi. IHW-Verl, Eching, 672 p.
- Fernandez Escobar R., de la Rosa R., Leon L., Gomez J.A., Testi F., Orgaz M., Gil-Ribes J.A., Quesada-Moraga E., Trapero A, 2013. Evolution and sustainability of the olive production systems. Present and future of the Mediterranean olive sector. Zaragoza: CIHEAM / IOC. Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; Nr. 106: 11-42 <https://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=6803> (3.5. 2024)
- Gharbi, Y., Triki M., A., Trabelsi, R., Fendri, I., Daayf, F., Gdour, R., 2015. Genetic structure of *Verticillium dahliae* isolates infecting olive trees in Tunisia using AFLP, pathogenicity and PCR markers. *Plant Pathology* 64: 871-879
- Goidànich, G., 1990. Manuale di patologia vegetale. Edizioni Agricole della Calderini s.r.l. Vol. 2: 1030.
- Inderbitzin, P., Davis, R., M., Bostock, R., M., Subbarao, K., V., 2011. The Ascomycete *Verticillium longisporum* Is a Hybrid and a Plant Pathogen with an Expanded Host Range. *PLoS ONE* 6(3): e18260. doi:10.1371/journal.pone.0018260.
- Levin, A., G., Lavee, S., Tsrur (Lahkim), L., 2003. Epidemiology of *Verticillium dahliae* on olive (cv. Picual) and its effect on yield under saline conditions. *Plant Pathology* (2003) 52, 212–218.
- López-Escudero, F., J., del Río, C., Caballero, J., M., Blanco- López, M., A., 2004. Evaluation of olive cultivars for resistance to *Verticillium dahliae*. *European Journal of Plant Pathology* 110: 79–85
- López-Escudero, F., J., Mercado-Blanco, J., 2011. *Verticillium* wilt of olive: a case study to implement an integrated strategy to control a soil-borne pathogen. *Plant Soil* 344: 1-50.
- Montes-Osuna, N., Mercado-Blanco, J., 2020. *Verticillium* Wilt of Olive and its Control: What Did We Learn during the Last Decade? *Plants (Basel)*. 2020 Jun 11;9(6):735.
- Rhouma, A., Hajji-Hedfi, L., El Amine Kouadri, M., Atallaoui, K., Okon, O., G., Khriebe, M., I., 2023. *Verticillium* wilt of olive and its control caused by the hemibiotrophic soil-borne fungus *Verticillium dahliae*. *Microbial Biosystems* 8(2): 25-36.
- White, T., J., Bruns, T., D., Lee, S. B., 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., White, T., J., eds. *PCR Protocols*. San Diego: Academic Press, Inc. pp 315-322.