



EESTI MAAÜLIKOOL
Põllumajandus- ja keskkonnainstituut

Ülari Vent

**SEENORGANISMIDE ESINEMINE SUVIODRAL
(*HORDEUM VULGARE L.*)**

**THE OCCURRENCE OF FUNGAL SPECIES IN SPRING
BARLEY (*HORDEUM VULGARE L.*)**

Bakalaureusetöö
Põllumajandussaaduste tootmise ja turustamise õppekaval

Juhendajad: Riinu Kiiker, *MSc*

Kaire Loit, *MSc*

Tartu 2019

Eesti Maaülikool Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Bakalaureusetöö lühikokkuvõte	
Autor: Ülari Vent		Õppekava: Põllumajandussaaduste tootmine ja turustamine	
Pealkiri: Seenorganismide esinemine suviodral (<i>Hordeum vulgare</i> L.)			
Lehekülgi: 44	Jooniseid: 6	Tabeleid: 2	Lisasid: 5
<p>Osakond: Taimeterwise õppetool</p> <p>Uurimisvaldkond: 1.6. Põllumajandusteadus; CERCS ERIALA: B390 Taimekasvatus, aiandus, taimekaitsevahendid, taimehaigused</p> <p>Juhendaja(d): Riinu Kiiker <i>MSc</i>, Kaire Loit <i>MSc</i></p> <p>Kaitsmiskoht ja aasta: Tartu 2019</p>			
<p>Töö eesmärgiks oli hinnata visuaalselt seenhaiguste esinemist tavatootmisettevõtte suviodra 'Sanette' põldudel 2018. a kasvuperioodil ja määrata molekulaarsel teel selle seemnetes säilivad seenorganismid.</p> <p>Uurimistöö jaoks valiti kolm tavatootmispõldu Ida-Virumaalt Tiido talu maadelt, kus kasvatati hilist suviodra sorti 'Sanette'. Igal põllul oli kolm eraldi vaatluskohta, kus teostati vaatlusi taimehaiguste lööbimise ja lööbimistugevuse kohta 2018. a kasvuperioodi jooksul. Odraseemned molekulaarseks uurimiseks koguti saagist ühendproovina kõikidelt põldudelt. Seemnes säilivad seemed viidi puhaskultuuri, eraldati nende DNA ja tehti kindlaks seene liik või perekond ITS regiooni järjestuse sekveneerimise abil.</p> <p>Tootmispõldudel lööbis taimede kasvuperioodil ainult pruunlaikus, mille haigustekitajaks on <i>Bipolaris sorokiniana</i>, millele oli sort ka vastuvõtlik. Taimed haigestusid kasvufaasides 21-25 ja haigus nähud tugevnesid kuni saagi koristamiseni kasvufaasis 90. Seemnes säilivate seente molekulaarsel uurimisel tuvastati 12 arvatavat</p>			

seeneliiki. Peamiselt oli tegu *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.*, *Pyrenophora spp.* ja *B. sorokiniana* liikidega. Lisaks leidis seemnetes ka hallitusseente liike perekondadest *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Lichtheimia*, *Cladosporium*, *Penicillium* ja *Aspergillus*. Uurimistöö tulemused näitasid, et visuaalsete haigusvaatluste käigus jäid põllul tuvastamata mitmed haigustekitajad sealhulgas *Pyrenophora spp.*, *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.*, mille sümptomid ei avaldunud taimikus ega olnud seetõttu põlluvaatluste käigus määratavad. Samas odraseemnetes need liigid esinesid ja olid tuvastatavad laboratoorses tingimustes, kasutades määramiseks molekulaarset metoodikat. Töö käigus tuvastati teadaolevalt esmakordselt Eestis suviadra seemnetest *Alternaria* liike, millel võib potentsiaalne roll olla erinevate haiguste põhjustamisel odra taimedel kasvuperioodil ning saagi kahjustamisel ka läbi mükotoksiinide produtseerimise.

Märksõnad: pruunlaikus, seenpatogeenid, molekulaarne identifitseerimine, ITS regioon

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Abstract of Bachelor's Thesis	
Author: Ülari Vent		Specialty: Production and Marketing of Agricultural Products	
Title: The occurrence of fungal species in spring barley (<i>Hordeum vulgare</i> L.)			
Pages: 44	Figures: 6	Tables: 2	Appendixes: 5
<p>Department: Chair of Plant Health</p> <p>Field of research: 1.6. Agricultural Sciences; CERCS SPECIALTY: B390 Phytotechny, horticulture, crop protection, phytopathology</p> <p>Supervisors: Riinu Kiiker <i>MSc</i>, Kaire Loit <i>MSc</i></p> <p>Place and date: Tartu, 2019</p>			
<p>The aim of this study was to visually evaluate the occurrence of fungal diseases in the conventional production fields of spring barley 'Sanette' during the growing season of 2018. Another aim was to identify the fungal organisms, which survive in the seeds using molecular methods.</p> <p>For the research, three conventional production fields were selected from the lands of the Tiido farm in Ida-Viru County, where the late-spring barley 'Sanette' was grown. Each of the fields had three separate disease observation sites, where the diseases occurrence and the impact strength was detected during the growing season of 2018. The barley seeds for molecular examination were collected as a bulk sample from all fields. The fungi retained in the seed were transferred to the pure culture, their DNA was extracted and the fungal species or genus was identified by sequencing the fungal ITS region.</p>			

In the production fields, the only disease that occurred during the growing season on barley plants was spot blotch caused by *Bipolaris sorokiniana*, to which the cultivar 'Sanette' was susceptible. The plants got infected in growth stages 21-25 and the signs of the disease increased until harvesting in the growth phase 90. 12 different fungal species were identified from the barley seeds, mainly *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Pyrenophora* spp. and *B. sorokiniana* species. In addition, also some mold species were isolated from the genera *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Lichtheimia*, *Cladosporium*, *Penicillium* and *Aspergillus*. The results of the research showed that in the course of visual disease observations, several pathogens were not detected in the field, including *Pyrenophora* spp., *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., whose symptoms did not appear in the vegetation period and were therefore not detectable during field surveys. In the same barley seed, these species were present and were detectable in laboratory conditions using molecular methodology for determination. In the course of the work, *Alternaria* spp. were isolated and identified from the seeds, which have not been done in Estonia before. These species may have a potential role in causing various diseases in barley plants during the growing season, and also damaging the harvest by production of mycotoxins.

Keywords: spot blotch, fungal pathogens, molecular identification, ITS region

SISUKORD

SISSEJUHATUS	8
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	9
1.1 Odra kasvatamine Eestis ja maailmas	9
1.2 Haigustekitajad odral	11
1.2.1 Olulisemad seemnes säilivad odra patogeenid	11
1.2.2 Mükotoksiinide produtseerijad	13
1.3 Haigustõrje võtted suviodra kasvatamisel	14
1.3.1 Mehaaniline tõrje.....	14
1.3.2 Bioloogiline tõrje.....	14
1.3.3 Keemiline tõrje	15
1.3.4 Haiguste ennetus.....	15
2. MATERJAL JA METOODIKA.....	17
2.1 Tootmispõllud.....	17
2.1.1 Suviodra sort.....	17
2.1.1 Ilmastik	18
2.1.2 Teraviljahaiguste hindamine vegetatsiooniperioodil.....	20
2.1.3 Seemneproovide kogumine	20
2.2 Seemnetes säilivate seente määramine	20
2.2.1 Seemnes säilivate seenorganismide puhaskultuuri viimine.....	20
2.2.2 Seente morfoloogiline iseloomustamine	21
2.2.3 Seente molekulaarne määramine	21
3. TULEMUSED	24
3.1 Teravilja haiguste esinemine vegetatsiooni perioodil	24
3.2 Odra seemnetest tuvastatud seeneliigid	25

4. ARUTELU	26
KOKKUVÕTE	28
KASUTATUD KIRJANDUS	29
LISAD	33
Lisa 1. Haigusvaatluse asukohad (VK) kolmel tootmispõllul.....	34
Lisa 2. Teostatud tööd tootmispõldudel	36
Lisa 3. Seenorganismide puhaskultuuri viimine	39
Lisa 4. Puhaskultuuri viidud seenisolaatide morfoloogiline iseloomustus ja ITS regiooni sekveneerimise tulemused	41
Lisa 5. DNA kontsentratsioonid	42
Lisa 6. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta.....	44

SISSEJUHATUS

Kõige varasemad leiud odra kasvatamisest pärinevad 8000 aastat eKr (Badr et al. 2000). Ajalooliselt oli oder Aasias, Aafrikas ja Euroopas üks olulisemaid kultuure, mida tarvitasid toiduks nii inimesed kui ka kariloomad (Badr et al. 2000). Viimased 10 aastat, aga on odra kasvupind moodustanud kogu teravilja kasvupinnast ligikaudu 8% (FAO 2019). Odra saagikust vähendavad erinevad haigustekitajad, Eestis on peamiselt levinud paarkümmend seenhaigust, mis tekitavad tavaliselt saagikadusid 15-25% (Lõiveke, Tammaru 1995: 82-107; Older 1999: 135-137). Haiguste levik oleneb palju ka keskkonnatingimustest, inimeste ja loomade tegevusest, mis piiravad või soodustavad haiguste levikut (Stubbs et al. 1986: 12-17).

Antud uurimuses üritatakse välja selgitada, kas molekulaarsel teel seemnetes säilivate seente kindlaks tegemine, läbi DNA eraldamise, on tulemuslikum kui visuaalsel teel haigustunnuste hindamine põldvaatluse käigus.

Kui molekulaarse meetodi abil on võimalik seene liike tuvastada seemnetest efektiivsemalt, kui visuaalsel vaatlusel haigus nähtude ilmnemise kaudu, saaks paljude haiguste lööbimist taimedel vältida ennetavate võtetega. Lisaks oleks võimalik selle meetodiga tõsta ka tootjate teadlikkust seemnetes olevate ja sellega levivate haigustekitajate olemasolust, et seeläbi vähendada haigustest tingitud saagikadusid ja säästa tehtavate kulutuste osas haiguste tõrjel.

Antud uurimustöö eesmärgiks on:

1. Hinnata visuaalselt seenhaiguste esinemist tavatootmisettevõtte suviadra `Sanette` põldudel 2018. a kasvuperioodil.
2. Määrata molekulaarsel teel suviadra `Sanette` seemnetes säilivad seenorganismid.

Hüpotees, millele uurimustöö on püstitatud:

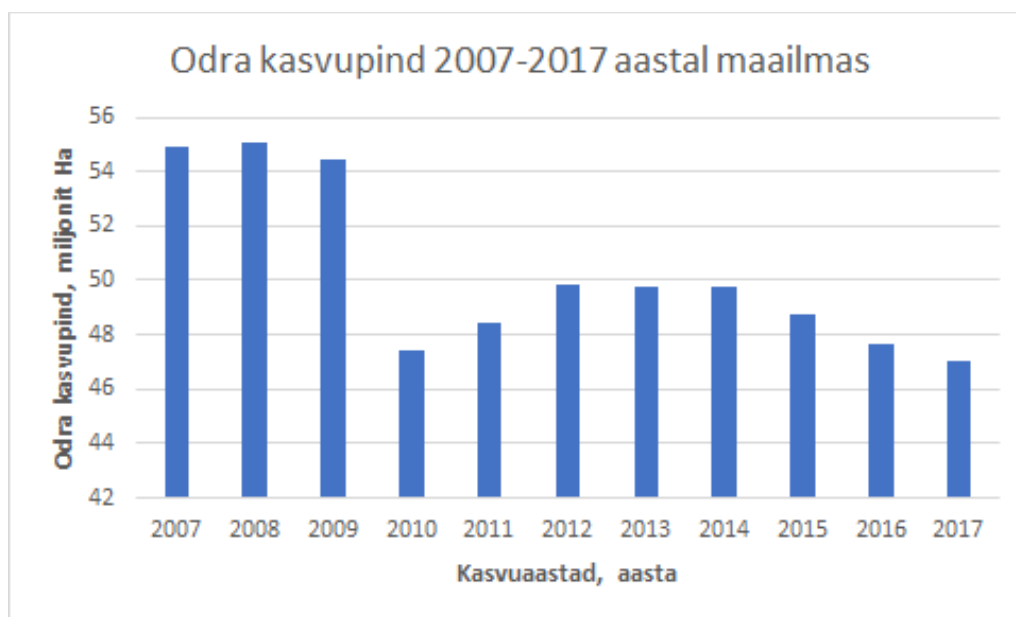
1. Molekulaarsete meetodite abil on taimahaigusi põhjustavate seente määramine tulemuslikum kui visuaalsel teel hindamine.

Täna antud uurimustöö koostamisel Riinu Kiikerit, Kaire Loiti ja Tiido talu. Uurimustöö on valminud EMÜ Arengufondi projekti PM170156PKTK toel.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1 Odra kasvatamine Eestis ja maailmas

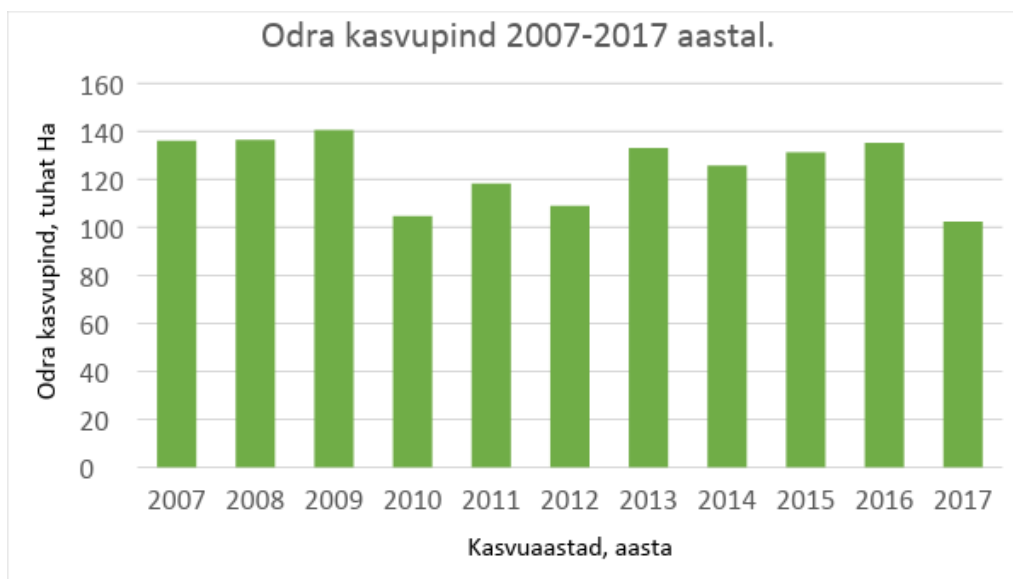
Oder on ülemaailmselt levinud põllukultuur, mida kasvatatakse erinevates kliimatingimustes, peamiselt troopikas ja parasvöötmes. 2017. aastal toodeti maailmas üle 147 miljoni tonni otra, sellest üle 60% toodeti Euroopas. Suurimateks tootjariikideks on Venemaa, Prantsusmaa ja Saksamaa. Viimase 10 aastaga on aga odra kasvupind märgatavalt vähenenud (Joonis 1.). (FAO 2019)



Joonis 1. Odra kasvupind maailmas aastatel 2007-2017 (FAO 2019)

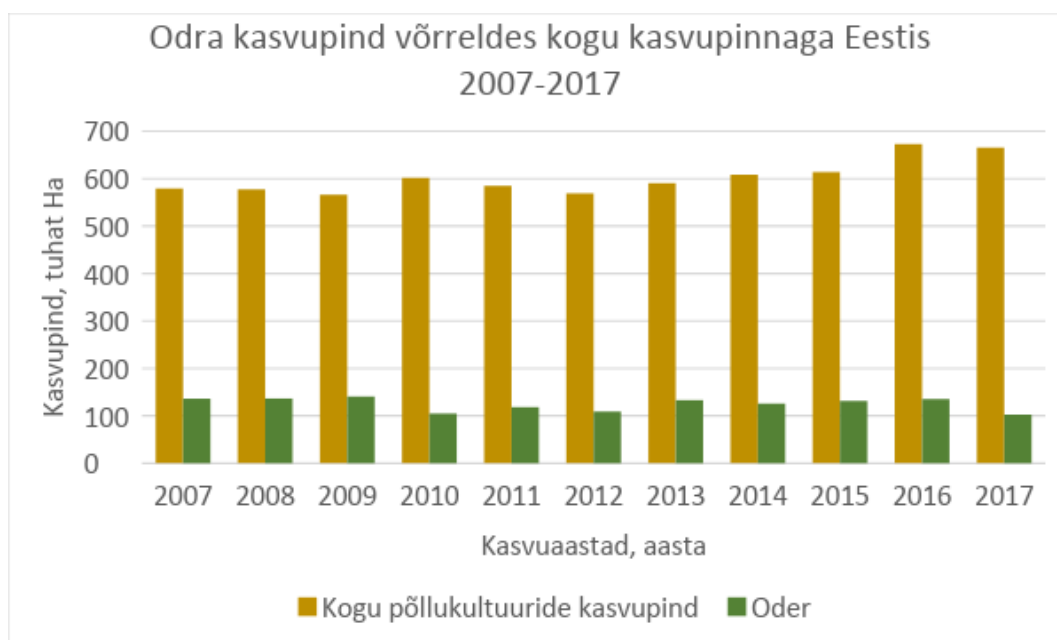
Eestis kasvatatakse peamiselt suviodra sorte, mis on sobilikud toiduainetööstusele ja söödaviljana tarbimiseks (Statistikaamet 2019). Toiduainetööstuses saadakse odrast töötlemise käigus odrakrupi, tangu, odrahelbeid ja odrajahu, lisaks veel õlut ja linnast (Heinsoo 1986). Oder on keskmise söödaväärtusega teravili, mida segatakse sageli proteiinirikkamate komponentidega (Heinsoo 1986). Eestis kasvatatud oder läheb peamiselt söödaviljana ekspordiks, 2018. aastal eksporditi otra 234 475 tonni ning imporditi 7598

tonni. Peamisteks sihtriikideks ekspordil olid 2018. aastal Saudi-Araabia (60,1%) ja Araabia Ühendemiraadid (23,9%) (Eesti Põllumajandus-Kaubanduskoda 2018).



Joonis 2. Odra kasvupind Eestis aastatel 2007-2017 (Statistikaamet 2019)

Võrreldes kogu põllumajanduse kasvupinnaga on odral suur osatähtsus sellest. Odra kasvupind moodustab keskmiselt ~20% üldisest põllukultuuride kasvupinnast ja selline näitaja on püsinud juba vähemalt 10 aastat (Joonis 3.).



Joonis 3. Odra kasvupind võrreldes kogu kasvupinnaga Eestis 2007-2017 (Statistikaamet 2019)

1.2 Haigustekitajad odral

Haigus on taime organite sees tekkiv patoloogiline protsess, mida tekitab haigustekitaja (Lõiveke, Tammaru 1995: 82-107). See, aga mõjutab taime ainevahetuslikke protsesse, mille tõttu tekivad kasvu pidurdumine, saagi ja selle kvaliteedi langus või isegi taime hävimine (Lõiveke, Tammaru 1995: 82-107). Sellist olukorda võivad tekitada seened, bakterid, viirused, ainuraksed ja mükoplasmad (Lõiveke, Tammaru 1995: 82-107). Haigustekitajad võib jaotada nende levimise ja ellujäämisstrateegia põhjal seemnes säilivateks, mullas või taimejäänustel säilivateks, õhu kaudu ja vektorite abil levivateks (Vega et al. 2018). Tavaliselt levivad ja säilivad haigused umbrohtunud põlluservadel, taimejäänustel, mullas ja seemnes (Tupits 2007). Veel aitavad haigustekitajaid levitada põllutöömasinad ja seadmed, mis liiguvad põldude vahel (Tupits 2007). Lisaks haigustekitajatele on olulised ka mükotoksiinide produtseerijad. Mükotoksiinid on seente poolt produtseeritavad toksilised ained, mis on kahjulikud tarbijale (Lõiveke 2008). Antud töös on keskendunud nii seemnes säilivatele haigustekitajatele kui ka mükotoksiine produtseerivatele seentele.

1.2.1 Olulisemad seemnes säilivad odra patogeenid

Triiptõve tekitajaks on *Pyrenophora graminea* (anamorf), mille teleomorf on *Drechslera graminea* (Sooväli, Kann 2018: 18-19). Ainus selle patogeeni teadaolev peremeesorganism on suvioder (Sooväli 2011). Haigusnähud ilmnevad peamiselt noortel lehtedel, põhjustades rakkude vahelisi nekrootilisi pruune piki lehte jooksvaid triipe (Ghannam et al. 2016). Nakatumist soodustab kõrge õhuniiskus ja õhutemperatuur vahemikus 15-25°C (Sooväli 2011). Haigus on põhjustanud paljudes riikides saagikadusid ja kvaliteedi langust (Bayraktar 2012). Türgis ja Austraalias on saagikaod olnud 3-15%, USA-s on haigusest tingitud kadu olnud, aga kuni 29% (Bayraktar 2012; CABI 2019).

Võrklaiksust tekitavad peamiselt kaks morfoloogiliselt eristamatut vormi *P. teres f. maculata* ja *P. teres f. teres* (anamorf), mille teleomorf on *D. teres* (Sooväli, Kann 2018: 20-21; Ellwood et al. 2010). Need kaks haigustekitajat erinevad, aga haigustunnuste poolest, *P. teres f. teres* tekitab taimedele võrgu taolise mustri ning *P. teres f. maculata* musti täppe taimedel (Ellwood et al. 2010). Haigustekitaja kandub edasi terade ja sõkalde abil, milles ta püsib kuni edasiarenguks soodsate tingimuste saabumiseni (Sooväli 2007). Lisaks säilib haigustekitaja ka taimejäänustel (Sooväli 2007). Haigus võib lööbida juba taimede võrsumise faasis (Sooväli 2007). Haigus võib põhjustada saagikadu 10-40%, kuid võib hävitada saagi ka täielikult, kui kultuur on haiguse suhtes hästi vastuvõtlik (Ellwood et al. 2010).

Pruunlaiksuse tekitajaks on *Bipolaris sorokiniana* (anamorf), mille teleomorf on *Cochliobolus sativus*, kuid mida looduses esineb üliharva (Kumar et al. 2002). Peremeestaimedeks on oder, nisu ja teised kõrrelised heintaimed (Han et al. 2010). Haigustekitaja on võimeline säilima taimede seemnetes, taimejäänustel või paksukestaliste koniididena mullas (Sooväli 2007). Haigestunud seemnetest arenevad taimed, mille juure tippudel ja lehtedel on pruunid nekrootilised laigud (Kumar et al. 2002). Haigustekitaja põhjustab ka juurte, lehtede ja pähikute mädanemist ning musti täppe vilja teradel (Han et al. 2010). Nakatumiseks on soodsaim soe ja niiske kliima, kus temperatuuride vahemik on 24-30°C ja õhuniiskus 95-97% (Sooväli 2007). Haigustekitaja nakatab taimi tavaliselt loomise keskpäigas, siis kui üle poole peast on viljatupest juba väljunud (Kumar et al. 2002). Saagikadu on keskmiselt umbes 10%, kuid kaod on ulatunud mõnes riigis ka kuni 60%-ni (Bailey et al. 1997; Johnston 1976). Haiguse üks tõhusamaid ennetuse võtteid on haigusele resistentsete sortide kasvatamine (Kumar et al. 2002). Lisaks on veel täheldatud, et ristõieliste sugukonda kuuluvate taimede poolt produtseeritud isotsüanaadid pärsivad haigustekitajaid mullas (Kumar et al. 2002).

Äärislaiksuse haigustekitajaks on *Rhynchosporium commune* (anamorf) (Sooväli, Kann 2018: 30-31). Haigustekitajat tuntakse ka *R. secalis* nime all (Arzanlou et al. 2016). Haigus nakatab nii suvi- kui ka taliotra (Fountaine et al. 2010). Koniidid levivad hästi tuule ja sademetega (Fountaine et al. 2010). Haigustekitaja võib talvituda nii mullas, seemnetes kui ka taimejäänustel (Arzanlou et al. 2016). Haigustunnused arenevad välja taime lehtedel, kus alguses tekivad pruunid nekrootilised laigud, mis hilisemas arengufaasis muutuvad kahvatuteks hallikateks laikudeks, mis on ümbritsetud pruuni servaga

(Thirugnanasambandam et al. 2011). Haigus on levinud Euroopas, Austraalias, Ida-Aafrikas, Lähis-Idas ja Lõuna-Aafrikas (Zaffarano et al. 2006). Tuneesias võib saagikadu olla haiguse tõttu kuni 19% (Bouajila et al. 2006). Epideemilistel aastatel võib ulatuda saagikadu ka 40-65%-ni (Williams et al. 2003; Beigi et al. 2013). Oluline on haigust ennetada resistentsemaid sorte kasvatades (Thirugnanasambandam et al. 2011).

1.2.2 Mükotoksiinide produtseerijad

Fusarium spp. poolt tekitatud haigusi nimetatakse fusarioosideks, mis põhjustavad taimeosade närbumist, punakastet ja juurekaelamädanikku (Lõiveke 2016). Juurekaelamädaniku puhul tekivad taimede lehetuppedele või kõrtele pruunid laigud ja kõrre sisemuses on näha roosakat seeneniidistikku (Lõiveke 2008). Punakaste puhul areneb taimede kõrtel, pähikutel ja teradel roosakas seeneniidistik (Lõiveke 2008). Valmivad terad on kõlujad ja eluvõimetud (Lõiveke 2008).

Fusarioosid põhjustavad olulist saagikadu odrakasvatusele Põhja- ja Lõuna-Ameerikas ning Euroopas (Leonard, Bushnell 2003: 241-295). Haiguse epideemiad on põhjustatud haigusele vastuvõtlike sortide kasvatamisest, virulentsete *Fusarium* rasside levikust ja haiguse arenemiseks soodsate ilmastikutingimuste püsimisest (Leonard, Bushnell 2003: 241-295). Kõrge õhuniiskus ja üle 25°C õhutemperatuur pähiku loomise faasis on olulised fusarioosi tekkel ja kiirel nakkuse arengul (Ullrich 2011: 311). *Fusarium* liigid on võimelised tootma mükotoksiine (nt. DON, NIV, ZEN), mis on mürgised inimestele ja loomadele (Bottalico, Perrone 2002). Seemnes säilides hakkavad seemned tootma mükotoksiine juba madala (15%) niiskuse sisalduse juures (Lõiveke 2008; Akk et al. 2017). Isegi vähese fusariooside esinemise korral võivad mükotoksiinid saagi kvaliteeti oluliselt vähendada ja vajalik oleks rakendada integreeritud taimekaitse võtteid (kasvatustehnoloogia, haigustõrje fungitsiididega, taimede haigusresistentsus) (Ullrich 2011: 311).

Alternaria spp. tekitavad suuri kahjusid erinevatele põllukultuuridele (Woudenberg et al. 2013). Nisul ja odral seostatakse *Alternaria* liike pähiku musthallituse tekkega, mille sümptomid on mustade seenestruktuuride ilmumine taime pähikul, lisaks ka laikpõletikuga teravilja lehtedel ning muudel maapealsetel osadel (Fulcher et al. 2017; Poursafar et al.

2018). Lisaks produtseerivad *Alternaria* liigid oma elutegevuse käigus ka mükotoksiine, näiteks alternariool, alternariool metüüleeter, makrosporiin, albertoksiinid (I, II ja III) (Escriva et al. 2017). Tihti esinevad haigustunnused kõrge õhuniiskuse tingimustes, taimedel, mis kannatavad toitainete puuduse all või on eelnevalt kahjustatud putukate eriti lehetäide poolt (Hershman 2011; Poursafar et al. 2018). Optimaalne temperatuur *Alternaria* liikide elutegevuseks on 22-30°C (Escrivá et al. 2017). *Alternaria* liikide tuvastamine võib olla keeruline, sest selle liigi perekond on hästi mitmekesine, varieeruvate morfoloogiliste tunnustega ning lisaks leidub ka palju peremeestaimi (Poursafar et al. 2018).

1.3 Haigustõrje võtted suviodra kasvatamisel

1.3.1 Mehaaniline tõrje

Üks levinumaid mehaanilisi ja ka ennetava tõrje võtteid on kündmine, mille käigus viiakse maapinnal olevad nakkusallikad sügavamale mulda, tõkestades seeläbi haigustekitajate levikut (Sooväli 2007). Lisaks on üks mehaanilise tõrje võtte ka haigete taimede ja terade välja korjamine ja sorteerimine, mille käigus saab eraldada teravilja saagist tungaltera sklerootsiumid (Older 1999: 135-137). Sellist meetodit kasutatakse peamiselt katselappidel ja seemnepõldudel, kus on oluline haiguste seire või vajadus saada haiguste vaba seemnevilja (Older 1999: 135-137). Sellise tõrje meetodi negatiivne külg on suur töömahukus, mistõttu kasutatakse seda võtet vähem (Older 1999: 135-137).

1.3.2 Bioloogiline tõrje

Bioloogilist tõrjet haiguste vastu on võimalik teostada puhtimise teel, kus taimede seemneid töödeldakse biopreparaadiga enne külvi (Older 1999: 135-137). Soomes ja Rootsis on saadud häid tulemusi puhtides seemneid biopreparaatidega Mycostop (*Streptomyces griseoviridis*), Trichosphagniin (*Trichoderma lignorum*), Trichosphagniin-RC

(*Trichoderma viridae*) ja *Pseudomonas chlororaphis* bakteritüvega (Older 1999: 135-137; Lõiveke 1995: 40). Mõjunud on need just odra juuremädaniku (*Gaeumannomyces graminis*), triiptõve (*P. graminea*) ja võrklaiksuse (*P. teres*) vastu (Older 1999: 135-137). Hetkel ei ole Eestis teadaolevalt ühtegi biopreparaati ametlikult turul saadaval, mis oleks mõeldud teravilja haiguste tõrjeks seemnete puhtimise teel (PMA 2019).

1.3.3 Keemiline tõrje

Keemiline haiguste tõrje fungitsiididega on tänapäeval kõige efektiivsem võtte haiguste tõrjumiseks (Older 1999: 135-137). Võrreldes eelmiste meetoditega on ta ka kõige odavam ja kiirem (Older 1999: 135-137). Keemilise tõrje puhul võib taimede seemneid puhtida või pritsida taimikut põllul (Older 1999: 135-137). Preparaadi ja toimeaine valikul tuleb lähtuda konkreetsetest haigustekitajatest, mille vastu tõrjet tehakse (Older 1999: 135-137). Sellest tulenevalt tehakse teraviljapõldudel kasvuhooajal töötlusi ühe või mitme fungitsiidipreparaadiga. Näiteks puhtimise puhul, avaldub puhise kaitsev mõju seemnetele ja idanditele mullas säilivate ja õhu kaudu levivate haigustekitajate suhtes (Lõiveke 2004). Teraviljaseemnete puhtimine keemilise puhisega hävitab haigustekitajad seemne sees ja pinnal ning kaitseb taimi mullas olevate patogeenide eest varajasemas arengujärgus. Lisaks parandab puhtimine taimede vastupanuvõimet haiguste vastu, tugevdab füsioloogilist seisundit, soodustab juurte kasvu ning toitainete omastamist (Mathre et al. 2001). Puhtimise käigus töödeldakse külviks mõeldud taimede seemneid kuuma vee või mõne keemilise aine abil (Lõiveke 2004).

1.3.4 Haiguste ennetus

Taimehaiguste ennetamise üks meetodeid on külvikorra planeerimine nii, et botaaniliselt sarnaseid kultuure liiga sagedalt samal põllul ei kasvatataks, kuna see soodustab haigustekitajate levikut (Ilumäe et al. 2006). On tehtud kindlaks, et ristõieliste sugukonna taimed külvikorras pärsivad teatud teravilja haigustekitajaid (Kumar et al. 2002). Haigusi

aitab vähendada ka seemne uuendamine sertifitseeritud seemnega ja hoidmine kuivades ning jahedates tingimustes (Tupits 2007). Lisaks mängivad rolli ka õige külviaeg, külvitihedus ja sügavus (Lõiveke, Tammaru 1995: 82-107). Ennetav tõrje on ka sortide kasvatamine, mis on potentsiaalselt suurt saagikadu põhjustavate haiguste suhtes resistentsed (Thirugnanasambandam et al. 2011).

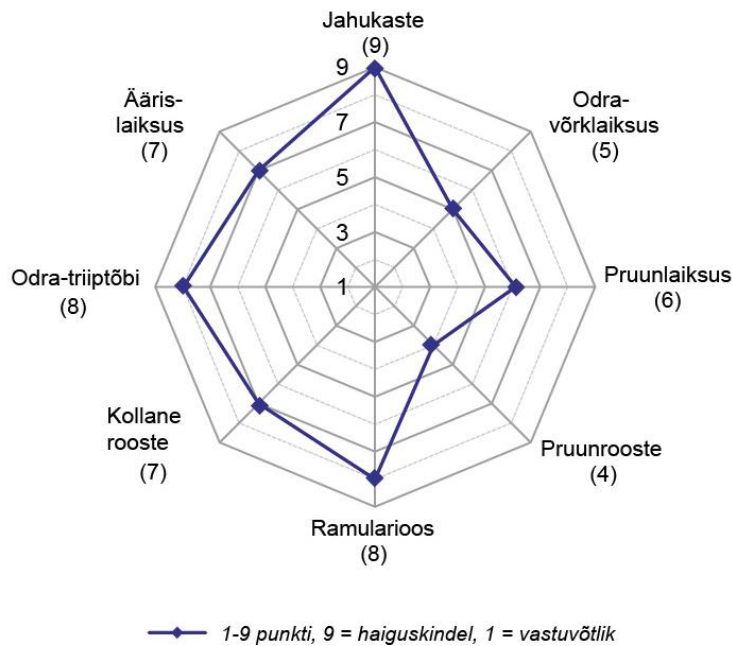
2. MATERJAL JA METOODIKA

2.1 Tootmispõllud

Vajaliku materjali kogumiseks valiti välja kolm erinevat põldu, kus kasvas harilik suvioder (*Hordeum vulgare* L.). Kõik uuritavad põllud kuulusid Tiido talu kasutusse ja asuvad Ida-Virumaal, Toila vallas, Valaste külas. Uurimiseks kasutati põllumassiive 69259454500, 69259473916, 69259359085 ja 68859480806 (PRIA veebikaart 2019). Põllud ja vaatluslapi kohad tähistati, et tagada vaatluse teostus iga kord samal kohal (Lisa 1.) (PRIA veebikaart 2019). Põldude mullastik on varieeruv. Põllud 1 ja 2 koosnevad peamiselt Kh'' (Õhuke paepealne muld), kuid leidub ka Kor (Koreserikas leostunud muld) ja KI (Leetjas muld) mullastiku tüüpe (Maa-ameti mullastiku kaart, 2019) (Astover et al. 2013: 45-48). Põllul 3 esineb mullastikutüüpe GI (Leetjas gleimuld) ja KIg (Gleistunud leetjas muld) (Maa-ameti mullastiku kaart 2019) (Astover et al. 2013: 45-48). Lõimis kõikidel põldudel haritavas mullakihis on ls2 (Keskmine liivsavi) (Maa-ameti mullastiku kaart 2019). Tootja kasutas taimede kasvatuseks tavaviljelusmeetodit. Tootmispõldudel teostati hooaja jooksul ka haigustõrjet. Kõik teostatud tööd ja sealjuures kasutatud vahendid on välja toodud põlluraamatu väljavõttes (Lisa 2.).

2.1.1 Suviodra sort

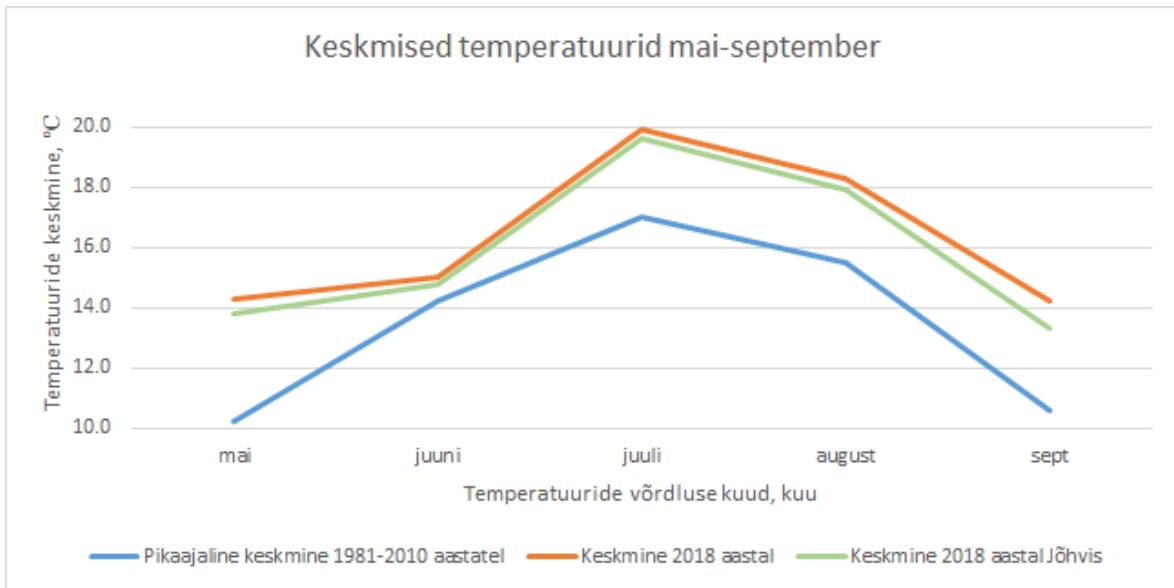
Uuritavaks suviodra sordiks oli 'Sanette' (Syngenta, UK), mis on oma iseloomu poolest keskvalmiv kuni hiline ja kõrge saagikusega sort (ERK keskmine 7,43 t/ha) (Syngenta 2019). Põllumajandusuuringute keskuse (PMK) Viljandi katsekeskuse andmetel oli suviodra 'Sanette' keskmine kasvuaeg 97-103 päeva (2014-2016. aastatel) (Viljandi katsekeskus 2019). Sort on aretatud resistentseks jahukaste (*Blumeria graminis*) vastu ning on vähe vastuvõtlik ka ramularioosi (*Ramularia collo-cygni*) ja odra triiptõve (*Pyrenophora graminea*) suhtes (Joonis 4.) (Syngenta 2019). Väiksem vastupanuvõime on sordil odra leherooste (*Puccinia hordei*) ja võrklaiksuse (*P. teres*) suhtes (Syngenta 2019).



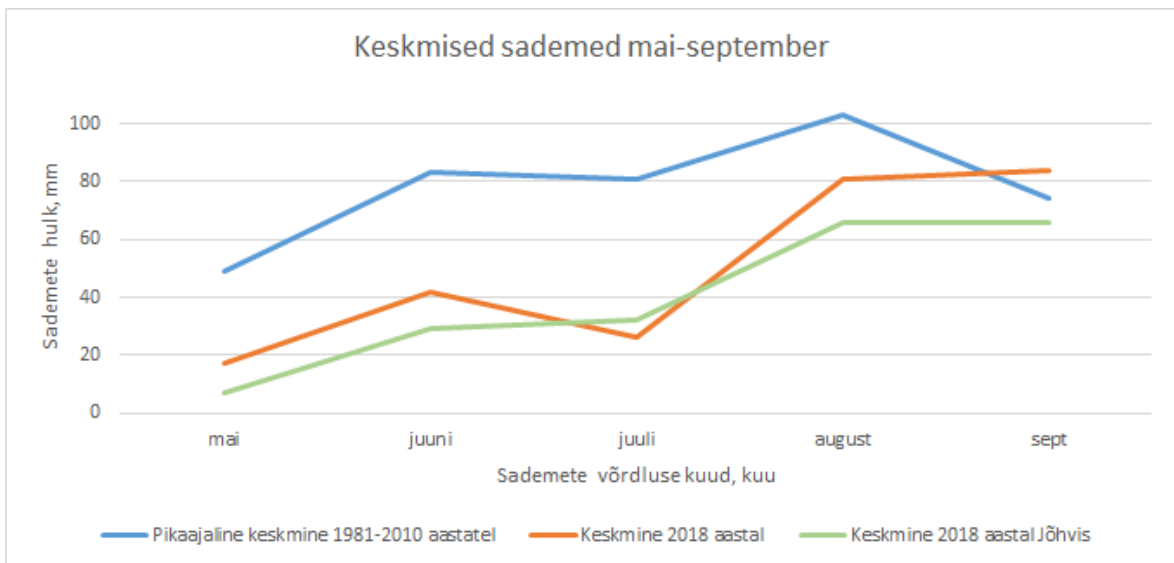
Joonis 4. Suviodra 'Sanette' haiguskindlus (Syngenta 2019)

2.1.1 Ilmastik

Odra taimede kasvuks on kõige soodsam jahe ja niiske ilm (Tamm 2007). 2018. aasta taimede kasvuperioodi ilmastikutingimused olid, aga väga soojad ja põuased, mis mõjutas taimede kasvu tunduvalt. Ilmateenistuse andmetel esines tunduvalt kõrgem keskmine temperatuur kogu suviodra kasvuperioodil idanemisest kuni terise valmimiseni, eriti olulist negatiivset mõju avaldasid kõrgemad temperatuurid taime arengustaadiumites BBCH 50-90 (Joonis 5.) (Ilmateenistus, 2019). Lisaks sellele oli sademete hulk kogu suviodra kasvuperioodil tunduvalt madalam kui pikaajaline keskmine (Joonis 6.) (Ilmateenistus, 2019). Odra kõige suuremat veevajadust peetakse perioodil kõrsumisest loomiseni, millal tema veevajadus on 30-40% kogu vee tarbest kasvuperioodi jooksul (Tamm 2007). Sel perioodil (juunis) 2018. a oli sademete hulk poole väiksem pikaajalisest keskmisest (Joonis 6.).



Joonis 5. Jõhvi meteoroloogiajaama ja üle-eestiline keskmine õhutemperatuur suviendra kasvuperioodil mai-september (Ilmateenistus, 2019)



Joonis 6. Jõhvi meteoroloogiajaama ja üle-eestiline keskmine sademete hulk suviendra kasvuperioodil mai-september (Ilmateenistus, 2019)

2.1.2 Teraviljahaiguste hindamine vegetatsiooniperioodil

Odrataimede kasvuperioodil hinnati taimehaiguste esinemist kasutades PMA (Eesti Põllumajandusameti), mahepõllumajanduse ja seemne osakonna riiklike majanduskatsete katsemetoodikat. Haigusi hinnati odra põldudel 10-päevase intervalliga ajavahemikus 16.06.2018 – 05.08.2018 igalt põllult kolmest vaatluskohast (VK) (Lisa 1). Haiguste hindamisel registreeriti taimede fenoloogiline arengustaadium (BBCH) (Lancashire et. al, 1991) ja taimehaiguse esinemise tugevus.

2.1.3 Seemneproovide kogumine

Kuna antud suviodra sort kuulus oma paljundamise astme poolest C2 kategooriasse, siis edasi paljundamisele see ei kuulu ja läheb kasutamisele lihtsalt tarbeviljana. Seepärast on seemneproov kogutud üldine kõigi ettevõtte suviodra põldude pealt. Üldise proovi abil saab hinnata haigustekitajaid kogu ettevõtte odrapõldude ulatuses ning see annab parema ülevaate mükotoksiinide produtseerijate kohta müüdavas tarbeviljas.

2.2 Seemnetes säilivate seente määramine

2.2.1 Seemnes säilivate seenorganismide puhaskultuuri viimine

Töö eesmärgiks oli teada saada, millised seenhaigustekitajad suviodra 'Sanette' seemnes säilivad Ida-Virumaal, Toila vallas, Valaste külas, Tiido talus 2018. a kasvatatud teravilja näitel. Haigustekitajate tuvastamiseks võeti aluseks lõikuse ajal kogutud üldine seemneproov. Seente puhaskultuuri viimine teostati EMÜ Taimetervise õppetooli fütopatoloogia laboris puhastes tingimustes laminaarkapis (Lisa 3). Toiminguteks kasutati pintsette, mis steriliseeriti kuumtöödeldes. Esmalt pindsteriliseeriti odraseemneid 2 minutit

5% naatriumhüpokloriti lahuses ja seejärel loputati seemneid kaks korda destilleeritud vees 2 minuti jooksul. Seemned asetati steriilsele PDA (*Potato Dextrose Agar*) tardsöötmele Petri tassides, igale ühele 4 seemet, kokku 40 seemet. PDA tardsööde sisaldas glükoosi 20g/l, kartuli peptooni 4g/l ja agarit 15g/l, tardsöötme pH oli 5,6. Petri tassid suleti Parafilmi ribaga, et takistada võõrorganismide juurdepääsu. Petri tasse hoiti laboris toatemperatuuril 23°C juures 2 ööpäeva. Seejärel kontrolliti Petri tasse ja külvati seenisolaadid steriilse külvinõelaga uuele steriilsele PDA tardsöötmele, mida hoiti 23°C juures. Seda protseduuri korrati nii mitu korda, kui seente puhaskultuuri viimiseks vaja oli.

2.2.2 Seente morfoloogiline iseloomustamine

Puhaskultuuri viidud seenisolaadid erinesid üksteisest morfoloogiliste tunnuste alusel. Seenisolaate iseloomustati makroskoopiliste tunnuste järgi (mütseeli värvus, pinnastruktuur) ja mikroskopeerides tuvastatud seeneeoste järgi. Kokku kuulus rühmitamisele 30 puhaskultuuri eraldatud seenisolaati (Lisa 4.).

2.2.3 Seente molekulaarne määramine

2.2.3.1 DNA eraldamine

Seenisolaatide DNA eraldati puhaskultuuri viidud seente mütseelist, mis kraabiti steriilse skalpelliga söötmelt ja asetati mikrotsentrifuugituubi. Sellele lisati 200 µl TE (Tris EDTA) puhvrit (pH 8) ja metallkuulikesed. Mütseeli lõhuti mehhaaniliselt 10 minutit, selleks kinnitati proovid horisontaalsele vorteksile. DNA eraldamiseks kasutati GENEJET Genomic DNA Purification Kit-i (ThermoScientific Inc.) järgides tootja poolset protokollit. DNA kontsentratsioon mõõdeti NanoDrop 2000 spektrofotomeetriga (Thermo Fisher Scientific Inc.) (Lisa 5). DNA säilitati -20°C juures.

2.2.3.2 Polümeraasi ahelreaktsioon

Geenifragmentide amplifitseerimiseks kasutati polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR) segu lõppmahuga 25 µl (Tabel 1.). Segus kasutati seene-universaalseid ITS regiooni amplifitseerivaid praimereid ITS1-F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'; Gardes, Bruns 1993) ja ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'; White et al. 1990).

Tabel 1. Ained ja nende lõppkontsentratsioon PCR segus

PCR segu	Kogus	Konsentratsioon
5x HOT FIREPol Blend Master Mix 12,5 mM MgCl ₂ (Solis Biodyne, Tartu, Eesti)	5 µl	1x
pärisuunaline praimer ITS1-F (20 mM)	0,4 µl	0,32 mM
vastassuunaline praimer ITS4 (20 mM)	0,4 µl	0,32 mM
DNA vaba H ₂ O	18,2 µl	
DNA	1 µl	

PCR viidi läbi Mastercycle flexid nexus (Eppendorf AG, Hamburg, Saksamaa) masinas. Esmalt toimus eelkuumutamine 15 minuti jooksul 95°C juures, sellele järgnes 30-tsükliline protsess. Iga tsükel koosnes kolmest etapist: 15 sekundit DNA ahelate denaturatsiooni 95°C juures, 30 sekundit praimerite seondumist 55°C juures ja DNA ahela sünteesi 30 sekundi jooksul 72°C juures. Reaktsiooni lõpus toimus DNA lõppekstensioon 5 minutit 72°C juures. Kontrollimiseks reaktsiooni toimumise õigsust kasutati 2 kontrollproovi, üks negatiivne ilma DNA-ta ja üks positiivne (*Alternaria solani*). Esimesel paljundamise katsel ebaõnnestunud proovid korrati samade segukomponentidega. Suurendati ainult PCR tsüklite arvu 35 kordusele.

2.2.3.3 PCR reaktsiooni kontroll

PCR reaktsiooni kontrollimiseks teostati geelelektroforees, 1,5% agarosgeelil, millele lisati 0,5 µg ml⁻¹ kontsentratsiooniga etiidumbromiidi (EtBr), 1X TBE (Tris-boraat) puhvril. Geeli hambasse kanti 5 µl PCR proovi. Produkti suuruse hindamiseks kasutati 1 kb DNA suurus markerit (GeneRuler TM; Fermentas; Leedu). Geelelektroforees viidi läbi 1x TAE puhvril 150 V juures 25 minuti jooksul. Geeli pildistati UV transilluminaatoris. Kontrollimise käigus saab tuvastada palju DNA-d paljundati ja millise pikkusega on DNA fragmendid PCR proovides. Antud juhul on DNA fragmentide pikkus 500-600 nukleotiidset aluspaari. Kokku ebaõnnestus esimesel paljundamisel PCR reaktsioon seitsmel proovil, millest üks õnnestus paljundada teisel katsel. Ülejäänud proovid jäid edasi uurimisest välja ja sekveneerimisele neid ei saadetud.

2.2.3.4 PCR produktide sekveneerimine

Kui PCR proovides oli olemas 500-600 nukleotiidset aluspaari pikkune DNA fragment, siis need PCR produktid saadeti sekveneerimisele ITS5 (White et al. 1990) praimeriga Applied Biosystems täisautomaatse kapillaarsekvenaatoriga 3730xl DNA Analyzer Eesti Biokeskusesse, Tartusse. Sekveneeritud järjestuste analüüsimiseks kasutati programmi BioEdit 7.0.5.3 (Hall 1999). Sekveneerimistulemuste kontrollimiseks ja seeneliikide tuvastamiseks võrreldi saadud DNA järjestusi seente globaalses andmebaasis UNITE (Nilsson et al. 2018) olevate andmetega, kust valiti välja kõige parema kattuvusega võrdlus järjestused (Lisa 4.).

3. TULEMUSED

3.1 Teravilja haiguste esinemine vegetatsiooni perioodil

Eelmine (2018.a) kasvuhooaeg oli odra kasvatamiseks ebasoodne, kuna pikad põuaperioodid takistasid odra arengut mais, juunis ja juulis ning kõrged õhutemperatuurid peamiselt mais, juulis ja augustis. Ilmastik oli ebasoodne ka paljude odra seenpatogeenide jaoks ja seega tuvastati vegetatsiooniperioodil teostatud vaatluste käigus Ida-Virumaal, Valaste külas asuvate Tiido talu suviadra põldudel ainult pruunlaiksus, mida põhjustab *Bipolaris sorokiniana*, mille tulemused on esitatud tabelis 2. Kõikidel põldudel lööbis pruunlaiksus taimede võrsumise faasis BBCH 21 või BBCH 25 ja progresseerus kasvuperioodi jooksul saavutades haiguse esinemise tugevuseks 7-8 (nakkus tugev, 22-60%) odrataimede piimküpsuse faasis.

Tabel 2. Taimede fenoloogiline arengustaadium (BBCH) ja pruunlaiksuse esinemise tugevus

Vaatluse kuupäev	Põld 1				Põld 2				Põld 3			
	BBCH	Haiguse tugevus			BBCH	Haiguse tugevus			BBCH	Haiguse tugevus		
		VK1	VK2	VK3		VK1	VK2	VK3		VK1	VK2	VK3
16/06/2018	25	2	2	2	25	2	2	2	21	3	2	3
26/06/2018	37	4	5	5	37	5	4	5	34	5	4	5
06/07/2018	51	4	6	5	51	5	4	5	51	5	4	5
16/07/2018	62	5	6	6	62	6	6	6	62	6	6	6
26/07/2018	75	6	7	7	75	7	7	7	75	7	6	7
05/08/2018	90	7	8	7	90	7	7	7	90	8	7	8

3.2 Odra seemnetest tuvastatud seeneliigid

Puhaskultuuri viidud seente ITS geenijärjestuse sekveneerimise ja andmebaasi UNITE geenijärjestustega võrdlemise põhjal tuvastati 30 proovi hulgas kokku 12 arvatavat seeneliiki (Lisa 4.). Peamiselt oli tegemist *Alternaria* perekonna liikidega (*A. infectoria*, *A. alternata*), *Fusarium* spp. (*F. poae*, *F. avenaceum*), *Bipolaris sorokiniana* ja *Pyrenophora* spp.

Puhaskultuuri viidud seente hulgas oli ka hallitusseeni perekondadest *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Lichtheimia*, *Cladosporium*, *Penicillium* ja *Aspergillus*, kuid need isolaadid jäeti analüüsimisest kõrvale, kuna nad ei ole olulised seemnes säilivate patogeenidena.

4. ARUTELU

Haigustekitajate ja mükotoksiinide produtseerijate tuvastamine on vajalik, sest haigustekitajad vähendavad tunduvalt saaki ning mükotoksiinide esinemine on kahjulik tarbijale (Lõiveke 2008). Vaadates odra kasvupinda nii Eestis kui ka maailmas (Joonis 1. ja 2.) võivad haigustele soodsal kasvuaastal saagikaod põhjustada märkimisväärset majanduslikku kahju. Erinevad seenhaigused arenevad peamiselt soojades ja niisketes tingimustes (Sooväli 2007 ja 2011; Hershman 2011; Poursafar et al. 2018; Ullrich 2011: 311). Meteoroloogilistel andmetel oli üldiselt haiguste levikuks ebasoodne aasta, keskmiste temperatuuride vahemik oli küll tavalisest kõrgem, kuid sademeid oli tunduvalt vähem taimede aktiivsel kasvuperioodil (Joonis 5. ja 6.).

Uurimistööst jaoks valitud suviadra tootmispõldudel lööbis pruunlaiksus, mille haigustekitajaks on *B. sorokiniana*, mis sai hiljem kinnitust seemnetes leiduvate seente molekulaarse määramise teel laboritingimustes (Tabel 3.). Lööbimise põhjuseks võivad olla varasem haigustekitaja eoste olemasolu mullas või külvises seemnetes ja ka kasvuperioodil tuule abil levinud koniidid (Sooväli 2007). Ka suviadra sort 'Sanette' on vastuvõtlikum pruunlaiksuse haigustekitaja *B. sorokiniana* suhtes (Joonis 4.). Lisaks ei mõju tootmispõldudel haigustõrjeks kasutatud fungitsiidi Epox Top toimeained (epoksikonasool, fenpropidiin) pruunlaiksuse tekitajale (ADAMA, 2019). Tulemust kinnitavad ka Viljandi katsekeskuse erinevatel katsepõldudel (Viljandi, Võru, Kuusiku, Jõgeva) tehtud haigusvaatluste tulemused, mis näitasid, et 2018. a kasvuperioodil lööbisid suviadral peamiselt võrklaiksus, pruunlaiksus ja jahukaste (Viljandi katsekeskus 2019).

Ka odra kasvuks olid 2018 a. ebasoodsad tingimused ja taimed olid väga tugevas stressiseisundis, sest taime kasvu varajastes staadiumites (BBCH 0-40) oli sademete hulk madal (Tabel 2. ja Joonis 6.). See võis olla ka üks põhjustest keskmisest saagikusest (2012-2016. a 7,5 t/ha) tunduvalt väiksema (5 t/ha) saagi saamisel (Viljandi katsekeskus 2019). Lisaks võis saagikuse vähenemine olla põhjustatud ka pruunlaiksuse haiguse lööbimisest, mis on eelnevatel andmetel võimeline 10-60% saagikadu põhjustama (Bailey et al. 1997; Johnston 1976).

Lisaks pruunlaiksuse tekitajale esines suviodra seemnetes ka *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.* ja *Pyrenophora spp.* erinevaid liike. Teadaolevalt esmakordselt Eestis määrati suviodra seemnetest erinevaid *Alternaria* liike. *Alternaria* liigid levivad niisketes tingimustes, tekitades musthallitust, mille nähud ilmnevad odra pähikutel mustade täppidena (Fulcher et al. 2017; Poursafar et al. 2018). Enne seemnes säilivate seenorganismide puhaskultuuri viimist võis näha, et osade seemnete pinnal esines musti täppe, mis võisid olla põhjustatud mõne *Alternaria* liigi poolt (Lisa 3.). See on oluline leid, kuna *Alternaria* liigid produtseerivad mükotoksiine ja rikuvad seeläbi teravilja kvaliteeti (Escrivá et al. 2017). Väga oluline oleks nende metaboliitide määramine tarbe- ja söödaviljas, kuid mida seni Eestis veel teadaolevalt ei tehta.

Fusarium spp. liikide levimist soodustasid 2018. a esinenud keskmisest kõrgemad õhutemperatuurid (üle 25°C) (Joonis 5.) (Ullrich 2011: 311). *Fusarium spp.* liigid levivad just nõrgestatud taimedel, mis kannatavad liigkuivuse, liigniiskuse või ebasobiva temperatuurirežiimi all (Lõiveke 2008: 7-8). Lisaks võib üks levikut soodustav põhjus olla ka ainult pindmine mullaharimine, mille käigus ei viida taime jäänuseid ja pindmist mullakihti sügavamale (Lisa 2.). Nimelt säilivad *Fusarium spp.* liigid ka taimejäänustel, kõrrelistel umbrohtudel ja mullas, lagundades pindmist orgaanikat (Lõiveke 2008: 7-8).

Pyrenophora spp. liike seostatakse triiptõve ja võrklaiksuse tekkimisega, mis ilmutab ennast võrgutaolise mustriga teravilja lehtedel või musti täppe taimeosade pinnal (Ellwood et al. 2010; Sooväli 2011). Haigusvaatluste käigus uuritavatel tootmispõldudel neid haigusi ei tuvastatud, kuid teravilja saagi seemnetest õnnestus *Pyrenophora* liike puhaskultuuri isoleerida ja tuvastada. Ka Viljandi katsekeskuse erinevatel katsepõldudel teostatud haigusvaatlused näitavad, et suviodral lööbib Eesti tingimustes peamise haigustekitajana võrklaiksus (Viljandi katsekeskus 2019). Erinevate allikate andmetel on triiptõbi ja võrklaiksus põhjustanud erinevates riikides 3-40% saagikadu (Bayraktar 2012; CABI 2019; Ellwood et al. 2010).

KOKKUVÕTE

Käesoleva uurimustöö käigus uuriti Tiido talu tavatootmispõldudel, kas molekulaarsete meetodite abil on odra taimi nakatavate seente määramine efektiivsem ja informatiivsem kui visuaalselt põldvaatluse käigus tuvastatud haiguste määramine. Selleks teostati kasvuperioodi jooksul kolmel erineval põllul haigusvaatlusi, valides igal põllul kolm vaatluskohta. Lisaks koguti tootmispõldude saagist koondproov, millest molekulaarsel teel määrati suviodra 'Sanette' seemnetes säilivad seenorganismid.

Põldvaatluste käigus selgus, et 2018. aastal lööbisid suviodral 'Sanette' ainult ühe haigustunnuse nähud, milleks oli pruunlaiksus, mille haigustekitaja on *Bipolaris sorokiniana*. Nakkuse tunnused ilmned juba võrsumise faasis BBCH 21 ja BBCH 25. Vähesed haiguste nakkuse põhjuseks võisid olla ebasoodsad ilmastikutingimused, sordi resistentsus teatud haigustekitajate suhtes ja kasutatud fungitsiidi mõju.

Molekulaarse meetodika abil määrati kindlaks 12 arvatavat seeneliiki 30 proovi hulgas. Nende seas oli peamiselt *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.*, *Pyrenophora spp.* ja *B. sorokiniana* seente liike, mis võivad tekitada suviodral pähiku musthallitust, laikpõletikku, taimeosade närbumist, punakastet, juurekaelamädanikku, triiptõve, võrklaiksust ja pruunlaiksust. Lisaks leidis proovides ka hallitusseeni perekondadest *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Lichtheimia*, *Cladosporium*, *Penicillium* ja *Aspergillus*, kuid need ei ole olulised seemnes säilivad patogeenid.

Kui põldvaatluse käigus suudeti tuvastada suviodral 'Sanette' ainult ühe haiguse sümptomid, siis molekulaarse meetodiga tuvastati mitmeid erinevaid seeneliike, mis võivad suviodral põhjustada erinevaid taimehaigusi. Seega antud uurimistöös seatud hüpotees leidis kinnitust. Kindlasti annaks haigustekitajate molekulaarne määramine paremaid tulemusi igapäevases taimekasvatases. Kui enne külvamist teha kindlaks seemnepartiis säilivad seenpatogeenid, saaks ennetada haiguste lööbimist. Oluline on seejuures jälgida sordi vastuvõtlikust erinevate haigustekitajate suhtes ja soodustavaid ilmastikutingimusi, mille põhjal saaks valida sobiva fungitsiidi taimehaiguste tõrjeks.

KASUTATUD KIRJANDUS

- Astover A., Reintam E., Leedu E., Kõlli R.** (2013). Muldade väliuurimine. Tartu: Eesti Loodusfoto, 70 lk.
- ADAMA. Epox Top. [veebileht] <http://www.adama.com/eesti/et/crop-protection/fungicides/epox-top.html> (04.05.2019)
- Akk E., Lõiveke H., Edesi L., Tamm Ü., Ilumäe E.** (2017). Mükotoksiini DON sisalduse dünaamika ladustatavas suviodras - *Taimakasvatuse alased uuringud Eestis 2017*. / Koost. I. Tupits, S. Tamm, Ü. Tamm, A. Toe. Jõgeva: Eesti Taimakasvatuse Instituut, lk. 152-155
- Arabi M. I. E., Allaf A. W., Jawhar M.** (2012). Thermoanalytical Study of Barley Seeds Infected With - *Journal of Plant Biology Research*. Vol. 1, No. 3, pp. 119-123.
- Arzanlou M., Kaivan K., Fariba M.** (2016). Some Evidence for Skewed Mating Type Distribution in Iranian Populations of *Rhynchosporium Commune*, the Cause of Barley Scald Disease - *Journal of Plant Protection Research*. Vol. 56, No. 3, pp. 237-43.
- Badr A., M K., Sch R., Rabey H.El., Effgen S., Ibrahim H.H., Pozzi C., Rohde W., Salamini F.** (2000). On the Origin and Domestication History of Barley (*Hordeum vulgare*) - *Molecular Biology and Evolution*. Vol. 17, No. 4, pp. 499-510.
- Bailey K.L., Duczek L.J., Potts D.A.** (1997). Inoculation of seeds with *iBipolaris sorokiniana* - *Canadian Journal of Plant Science*. Vol. 77, No. 4, pp. 691-698.
- Beigi S, Zamanizadeh H.R., Razavi M., Zare R.** (2013) Genetic Diversity of Iranian Isolates of Barley Scald Pathogen (*Rhynchosporium Secalis*) Making Use of Molecular Markers - *Journal of Adhesion Science and Technology*. Vol. 15, pp. 843-854.
- Bottalico A., Perrone G.** (2002). Toxigenic *Fusarium* species and Mycotoxins Associated with Head Blight in Small-Grain Cereals in Europe - *European Journal of Plant Pathology*. Vol. 108, No. 7, pp 611-624.
- Bouajila A., Haouas S., Fakhfakh M., Rezgui S., Ahmed M. El., Yahyaoui A.** (2006). Pathotypic diversity of *Rhynchosporium secalis* (Oudem) in Tunisia - *African Journal of Biotechnology* Vol. 5, No. 8, pp. 570-579.
- Bayraktari H., Akan K.** (2012). Genetic characterization of *Pyrenophora graminea* isolates and the reactions of some barley cultivars to leaf stripe disease under greenhouse conditions - *Turk J Agric For*. Vol. 36, pp. 329-339.
- Crops: FAOSTAT - *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (18.05.2019).
- Eesti meteoroloogia aastaraamat 2018. (2019). / Koost. K. Loodla, E. Tillmann, A. Kallis, R. Pärj, K. Vint, E. Juust, M. Krabbi, V. Šišova. Tallinn: Keskkonnagentuur [on-line] (19.05.2019)

- Ellwood S.R., Liu Z., Syme R.A., Lai Z., Hane J.K., Keiper F., Moffat C.S., Oliver R.P., Friesen T.L.** (2010). A First Genome Assembly of the Barley Fungal Pathogen *Pyrenophora Teres* f. *Teres* - *Genome Biology*. Vol. 11, No. R109.
- Escrivá L., Oueslati S., Font G., Manyes L.** (2017). *Alternaria* Mycotoxins in Food and Feed: An Overview - *Journal of Food Quality*. Vol. 2017
- Fountaine J.M., Shaw M.W., Ward E., Fraaije B.A.** (2010). The Role of Seeds and Airborne Inoculum in the Initiation of Leaf Blotch (*Rhynchosporium Secalis*) Epidemics in Winter Barley - *Plant Pathology*. Vol. 59, No. 2, pp. 330–37.
- Gardes M., Bruns T.D.** (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizas and rusts - *Molecular Ecology*. Vol. 2, No. 2, pp. 113-118.
- Ghannam A., Alek H., Doumani S., Mansour D., Arabi M.I.E.** (2016). Deciphering the transcriptional regulation and spatiotemporal distribution of immunity response in barley to *Pyrenophora graminea* fungal invasion - *BMC Genomics* Vol. 17, No. 1, pp. 256.
- Heinsoo J., Jaama E., Jõudu J., Reimets E., Viilberg K.** (1986). *Taimakasvatus*. Tallinn: Valgus, 320 lk.
- Hershman D.E.** (2011). Black “Sooty” Head Mold of Wheat - *Plant Pathology Extension*.
- Ilumäe E., Hansson A., Akk E.** (2006). Põllukultuuride mõju ökoloogilises külvikorras mulla orgaanilise aine sisaldusele - *Taimakasvatus*. / Koost. J. Kadaja, Jüri; J. Siim, U. Tamm, H. Jõgeva: EMVI Teadustööde kogumik LXXI (71), AS Rebellis, lk 103-108
- Johnston H.W.** (1976). Influence of spring seeding date on yield loss from root rot of barley - *Canadian Journal of Plant Science*. Vol. 56, pp. 741–743.
- Katsed: Katseandmete leht - *Viljandi katsekeskus*.
<http://pmk.agri.ee/viljandi2/katsed/otsing.php?lang=est> (01.04.2019)
- Kumar J., Schäfer P., Hüchelhoven R., Langen G., Baltruschat H., Stein E., Nagarajan S., Kogel K-H.** (2002). *Bipolaris Sorokiniana*, a Cereal Pathogen of Global Concern: Cytological and Molecular Approaches towards Better Control - *Molecular Plant Pathology*. Vol. 3, No. 4, pp. 185–95.
- Leaf stripe: Plantwise Knowledge Bank – CABI.
<https://www.plantwise.org/knowledgebank/datasheet/46115> (19.05.2019).
- Lancashire P.D., Bleiholder H., Boom T.V., Langelüddeke P., Stauss R., Weber E., Witzengerger A.** (1991). A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds - *Annals of Applied Biology*. Vol. 119, No. 3, pp. 561-601.
- Leonard K. J., Bushnell W. R.** (2003). *Fusarium head blight of wheat and barley* Minnesota: American Phytopathological Society (APS Press). 512 pp.
- Lõiveke H.** (2004). Seemnete puhtimine - *Taimekaitsesoovitusi*. / Koost. S. Uusna, H. Lõiveke, J. Mür, E. Ilumäe. Saku: Eesti Maaviljelus Instituut, lk 18.

- Lõiveke H.** (2016). Fusarium sp. esinemisega seotud taimehaiguste uurimisest EMMTUI-s ja EMVI-s - *Eesti taimekaitse 95.* / Koost. L. Metspalu, K. Jõgar, E. Veromann, M. Mänd Tartu: Eesti Maaülikool lk 55-60
- Lõiveke H., Tammaru I.,** (1995). Põllumajanduskultuuride haigused ja kahjurid ning nende tõrje - *Taimekaitse käsiraamat.* Koost. H. Lõiveke. Tallinn: Eesti Vabariigi Põllumajandusministeerium, lk. 82-107
- Lõiveke H.** (2008). Teraviljade fusarioosid Eestis. Saku: Eesti Maaviljelus Instituut, 77 lk.
- Mathre D.E., Johnston R.H., Grey W.E.** (2001). Small Grain Cereal Seed Treatment. – *The Plant Health Instructor.*
- Mullastiku kaart: Maaameti geoportaal - *Maaamet.*
https://xgis.maaamet.ee/maps/XGis?app_id=MA29&user_id=at&LANG=1&WIDTH=1620&HEIGHT=937&zlevel=8,692545.97086452,6594107.5244636&setlegend=HMAPMASS_29=1 (01.04.2019)
- Nilsson R.H., Larsson K-H., Taylor A.F.S., Bengtsson-Palme J., Jeppesen T.S., Schigel D., Kennedy P., Picard K., Glöckner F.O., Tedersoo L., Saar I., Kõljalg U., Abarenkov K.** (2018). The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications - *Nucleic Acids Research.* Vol. 47, No. D1, pp. D259–D264.
- Older H.** (1999). Teraviljakasvatuse käsiraamat. Saku: Eesti Maaviljeluse Instituut, 137 lk.
- PM03 Põllukultuuride kasvupind: Taimekasvatussaaduste tootmine - *Eesti Statistika andmebaas.*
<http://andmebaas.stat.ee/Index.aspx?lang=et&DataSetCode=PM03> (11.03.2019)
- Poursafar A., Ghosta Y., Orina A.S., Gannibal P.B., Javan-Nikkhah M., Lawrence D.P.** (2018). Taxonomic Study on *Alternaria* Sections *Infectoriae* and *Pseudoalternaria* Associated with Black (Sooty) Head Mold of Wheat and Barley in Iran - *Mycological Progress.* Vol. 17, No. 3, pp. 343–56.
- Põllumasiivide veebikaart - *Põllumajandus registrite ja informatsiooni amet.*
<https://kls.pria.ee/kaart/> (26.03.2019)
- Qingmei H., Huang L., Buchenauer H., Wang C., Kang Z.** (2010). Cytological Study of Wheat Spike Infection by *Bipolaris Sorokiniana* - *Journal of Phytopathology* Vol. 158, No. 1, pp. 22–29.
- Sooväli P., Runno-Paurson E., Koppel M.** (2007). Fungitsiidide vähendatud normide kasutamine teraviljahaiaguste tõrjel. – *Millest sõltub teravilja saagikus* / Koost. Jõgeva Sordiaretuse Instituut. Jõgeva: OÜ Vali Press, lk 14-25
- Sooväli P.** (2011). Integrated plant disease management in spring barley and oat production. Tartu: AS Ecoprint, lk 104
- Sooväli P., Kann L.** (2018) Põllukultuuride kahjustajad ja nende tõrje. Jõgeva: Trükikoda Paar, 55 lk

- Stubbs R.W., Prescott J.M., Saari E.E., Dubin H.J.** (1986). Cereal disease methodology manual. Mexico: CIMMYT Publications. 46 p.
- Syngenta. Sanette. [veebileht] <https://www.syngenta.ee/product/seed/sanette> (01.04.2019)
- Zaffarano P.L., McDonald B.A., Zala M., Linde C.C.** (2006). Global Hierarchical Gene Diversity Analysis Suggests the Fertile Crescent Is Not the Center of Origin of the Barley Scald Pathogen *Rhynchosporium Secalis* - *Phytopathology*. Vol. 96, No. 9, pp. 941–950.
- Taimekaitse vahendite register: Taimekaitse. - *Põllumajandusamet*. <https://portaal.agri.ee/avalik/#/taimekaitse/taimekaitsevahendid-otsing/et> (16.05.2019)
- Tamm Ü.** (2007). Odra omadused, kasvatamise iseärasused ja enamlevinud sordid - *Millest sõltub teravilja saagikus*. Koost. Jõgeva Sordiaretuse Instituut. Jõgeva: OÜ Vali Press, lk 26-35
- Teravilja- ja õlikultuuride turg IV kvartal 2018. (2019). Tallinn: Eesti Põllumajandus-Kaubanduskoda. <http://epkk.ee/wp-content/uploads/2018/05/Teraturg-IV-kv18.pdf> (18.05.2019).
- Thirugnanasambandam A., Wright K.M., Atkins S.D., Whisson S.C., Newton A.C.** (2011). Infection of Rrs1 Barley by an Incompatible Race of the Fungus *Rhynchosporium Secalis* Expressing the Green Fluorescent Protein - *Plant Pathology*. Vol. 60, No. 3, pp. 513–21.
- Tupits I.** (2007). Talirukis maheviljeluses - *Põllukultuuride ja nende sortide sobivus maheviljeluseks*. / Koost. M. Ess. Jõgeva: OÜ Vali Press, lk 22-27
- Vega D., Gally M.E., Romero A.M., Poggio S.L.** (2019). Functional groups of plant pathogens in agroecosystems: a review. - *European Journal of Plant Pathology*. Vol. 153, No. 3, pp. 695–713.
- White T.J., Bruns T.D., Lee S., Taylor J.** (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics - *Mycologia*. Vol. 82, No. 2, pp. 315-322.
- Williams, K., Donnellan S., Smyl C., Scott L., Wallwork H.** (2003). Molecular Variation in *Rhynchosporium Secalis* Isolates Obtained from Hotspots - *Australasian Plant Pathology*. Vol. 32, No. 2, pp. 257-262.
- Woudenberg J.H.C., Groenewald J.Z., Binder M., Crous P.** (2013). *Alternaria* redefined - *Studies in mycology*. Vol.75, pp. 171-212.

LISAD

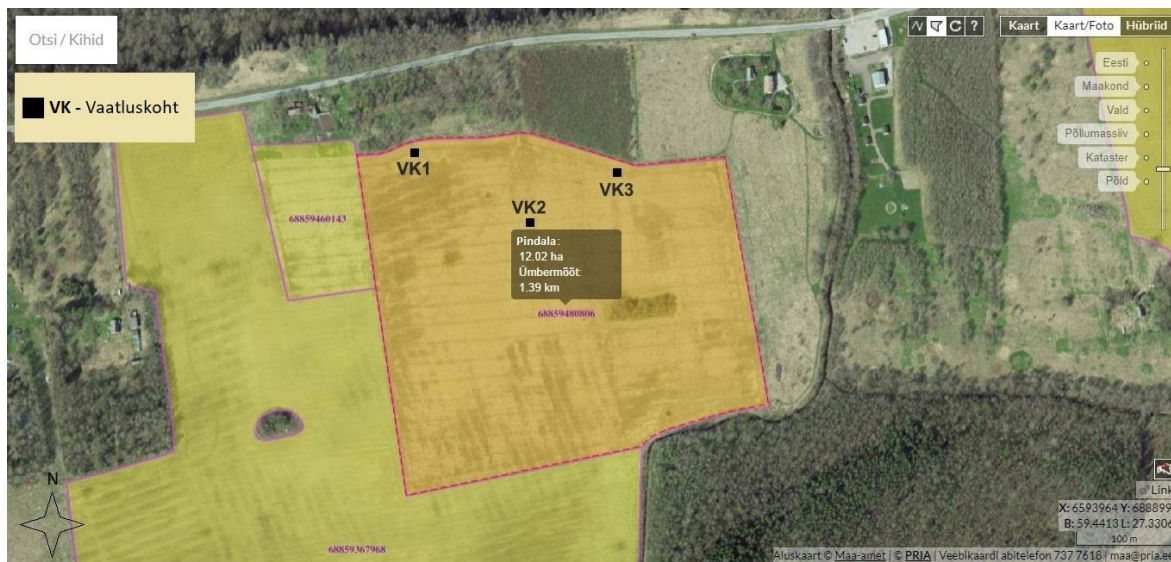
Lisa 1. Haigusvaatluse asukohad (VK) kolmel tootmispõllul



Joonis 1. Põld 1 haigusvaatluste asukohad (PRIA veebikaart 2019)



Joonis 2. Põld 2 haigusvaatluste asukohad (PRIA veebikaart 2019)



Joonis 3. Põld 3 haigusvaatluste asukohad (PRIA veebikaart 2019)

Lisa 2. Teostatud tööd tootmispõldudel

Tabel 1. Põld 1 teostatud tööd

Kuupäev	Töö nimetus	Materjali liik	Materjali nimetus	Kogus
26.04.2019	Randaalimine			
06.05.2019	Külvamine	Seeme	Oder 'Sanette'	180kg/ha
		Väetis	AN33	200/ha
07.05.2019	Rullimine			
08.06.2019	Taimekaitse	Herbitsiid	Granstar Premia 50SX + Primus	0,15g + 0,5ml/ha
		Vedelväetis	Universal Bio	1l/ha
		Vedelväetis	MgS	1l/ha
16.06.2019	Taimekaitse	Herbitsiid	Axial 50EC	0,6l/ha
		Insektitsiid	Danadim	0,5l/ha
		Vedelväetis	Universal Bio	1l/ha
19.06.2019	Väetamine	Väetis	AS21	150kg/ha
11.07.2019	Taimekaitse	Fungiitsiid	Epox Top	1,5l/ha
		Vedelväetis	MgS	1kg/ha
06.08.2019	Lõikamine			

Tabel 2. Põld 2 teostatud tööd

Kuupäev	Töö nimetus	Materjali liik	Materjali nimetus	Kogus
26.04.2019	Randaalimine			
07.05.2019	Külvamine	Seeme	Oder 'Sanette'	180kg/ha
		Väetis	AN33	200kg/ha
08.05.2019	Rullimine			
08.06.2019	Taimekaitse	Herbitsiid	Granstar Premia 50SX + Primus	0,15g + 0,5ml/ha
		Vedelväetis	Universal Bio	1l/ha
		Vedelväetis	MgS	1l/ha
16.06.2019	Taimekaitse	Herbitsiid	Axial 50EC	0,6l/ha
		Insektitsiid	Danadim	0,5l/ha
		Vedelväetis	Universal Bio	1l/ha
19.06.2019	Väetamine	Väetis	AS21	150kg/ha
11.07.2019	Taimekaitse	Fungiitsiid	Epox Top	1,5l/ha
		Vedelväetis	MgS	1kg/ha
06.08.2019	Lõikamine			

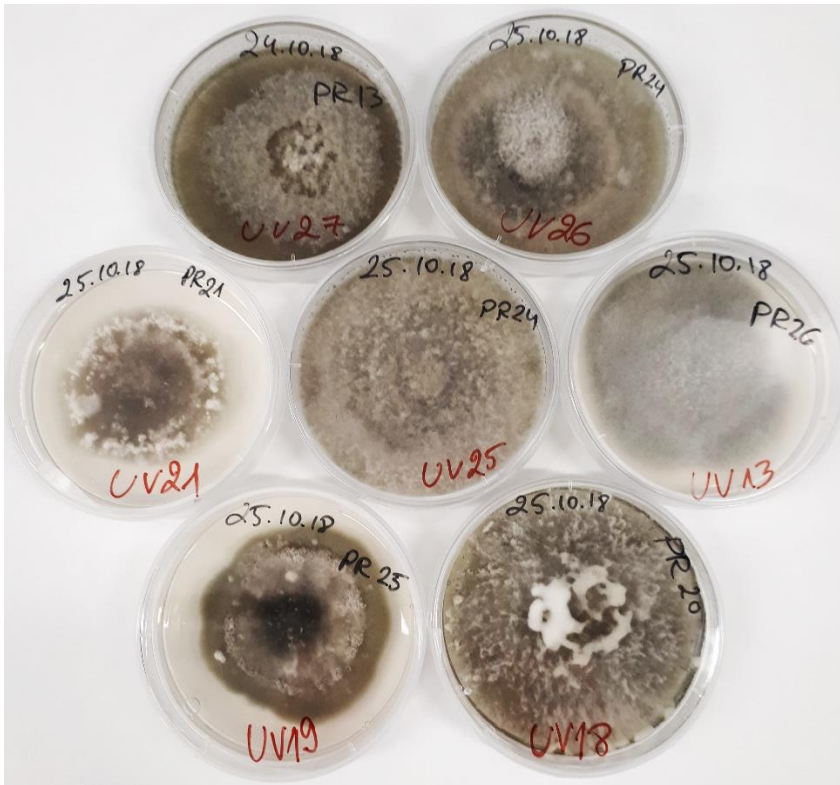
Tabel 3. Põld 3 teostatud tööd

Kuupäev	Töö nimetus	Materjali liik	Materjali nimetus	Kogus
15.05.2019	Randaalimine			
17.05.2019	Külvamine	Seeme	Oder 'Sanette'	180kg/ha
		Väetis	AN33	200kg/ha
18.05.2019	Rullimine			
10.06.2019	Pritsimine	Herbitsiid	Granstar Premia 50SX + Primus	0,15g + 0,5ml/ha
		Fungitsiid	Epox Top	1,5l/ha
		Vedelväetis	MgS	1l/ha
19.06.2019	Pritsimine	Herbitsiid	Axial 50EC	0,6l/ha
19.06.2019	Väetamine	Väetis	AS21	150kg/ha
23.06.2019	Pritsimine	Vedelväetis	Universal Bio	2l/ha
12.08.2019	Lõikamine			

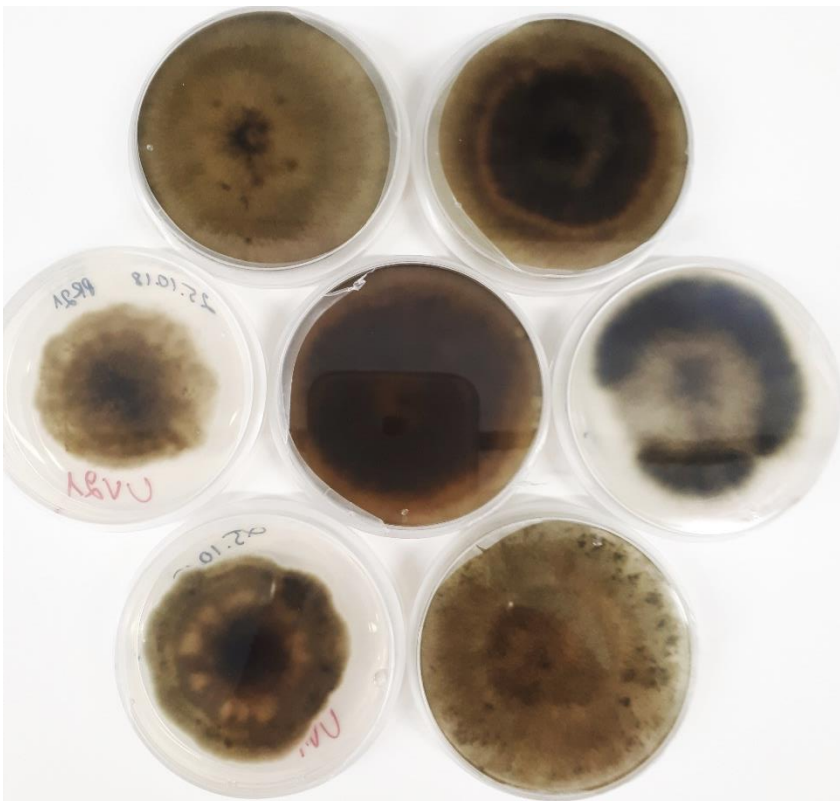
Lisa 3. Seenorganismide puhaskultuuri viimine



Joonis 1. Odra seemned



Joonis 2. Seente puhaskultuurid (pealtvaates)



Joonis 3. Seente puhaskultuurid (altvaates)

Lisa 4. Puhaskultuuri viidud seenisolaatide morfoloogiline iseloomustus ja ITS regiooni sekveneerimise tulemused

Tabel 1. Morfoloogiline iseloomustus ja ITS regiooni sekveneerimise tulemused

Puhaskultuuri viidud seenisolaatide koodid	Seenisolaatide morfoloogiline kirjeldus	Sekveneerimise tulemus
UV1, UV2, UV3, UV4, UV5,	Valge või hallikas kohev mütseel, hüüfidest kasvavad välja eoskandjad	<i>Rhizopus spp.</i>
UV11	Valge või hallikas kohev mütseel, hüüfidest kasvavad välja eoskandjad	<i>Rhizomucor spp.</i>
UV6, UV7, UV8, UV13, UV22, UV27	Mütseel on valge, kohev ja õhuline. UV13 ja UV22 puhul on mütseel veidi rohekat tooni.	<i>Alternaria infectoria</i>
UV9	Õhuline hallikas-valge mütseel.	<i>Lichtheimia spp.</i>
UV10, UV14, UV23, UV24, UV25, UV26	Õhuline hallikas või valge mütseel. UV10 on ka pruunikat söötme pinnale liibuvat mütseeli.	<i>Alternaria spp.</i>
UV12, UV15	Tugevalt tumeroheline või sinakasroheline tihe mütseel, noor seenemütseel valge.	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
UV16	Tumeroheline tihe mütseel.	<i>Penicillium polonicum</i>
UV17	Tihe sinepivärvi kollakasroheline mütseel.	<i>Aspergillus flavus</i>
UV18	Rohekas-hall kohev mütseel, mille peal valge vatitaoline mütseel.	<i>Pyrenophora spp.</i>
UV19, UV20, UV21	Mütseel keskelt rohekashall, äärtest heledam. Tumepruunid vaheseintega koniidid.	<i>Bipolaris sorokiniana</i>
UV28, UV29, UV30	Tumekollane või roosa mütseel, peal valged pikad hüüfid.	<i>Fusarium spp.</i>

Lisa 5. DNA kontsentratsioonid

Tabel 1. DNA kontsentratsioonid

Seenisolaatide puhaskultuurid	DNA kontsentratsioon ng/ μ l
UV1	34,6
UV2	86,3
UV3	95,8
UV4	49,1
UV5	65,6
UV6	7,4
UV7	11,7
UV8	10,2
UV9	38,7
UV10	23,9
UV11	52,5
UV12	112,6
UV13	8,2
UV14	21,5
UV15	23,1
UV16	27,2
UV17	6,9
UV18	66,3
UV19	14,8
UV20	13,4
UV21	10,1
UV22	14,6
UV23	12,5
UV24	29,9

UV25	39,9
UV26	30,5
UV27	11,3
UV28	27,1
UV29	18,1
UV30	20,7

Lisa 6. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Mina, Ülari Vent,
(sünnipäev 22/08/1996 39608222730)

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud lõputöö SEENORGANISMIDE ESINEMINE SUVIODRAL (*HORDEUM VULGARE L.*), mille juhendaja on Riinu Kiiker *MSc* ja Kaire Loit *MSc*,

- 1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,
- 1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja
- 1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor

allkiri

Tartu, 20.05.2019

Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Luban lõputöö kaitsmisele.

(juhendaja nimi ja allkiri)

(kuupäev)

(juhendaja nimi ja allkiri)

(kuupäev)