



LATVIJAS LAUKSAIMNIECĪBAS  
UNIVERSITĀTES  
AUGU AIZSARDZĪBAS ZINĀTNISKĀ INSTITŪTA  
“*AGRIHORTS*”

Projekta

**Dzeltenās rūsas (ieros. *Puccinia striiformis*,  
Wes.) izplatība Latvijā un pasākumi tās  
postīguma ierobežošanai**

Nr. 10 9.1-11/21/1822-e

zinātniskā atskaite

Projekta vadītāja: Līga Zemeca

Jelgava, 2021

**Projekta izpildītāji:**

**LLU Augu aizsardzības zinātniskais institūts "Agrihorts":**

Līga Zemeca, pētniece

Inga Moročko-Bičevska, Ph.D., vadošā pētniece

Maksims Fiļipovičs, viespētnieks

Inta Jakobija, pētniece

Viktorija Zagorska, vadošā pētniece

Vija Strazdiņa, pētniece

## Saturs

Kopsavilkums .....	4
Ievads .....	6
Dzeltenās rūsas ierosinātāja <i>P. striiformis</i> agresīvo rasu un Latvijā audzēto kviešu šķirņu mijiedarbības izpēte laboratorijas apstākļos .....	8
Metodika .....	8
Rezultāti .....	9
Secinājumi.....	10
Dzeltenās rūsas ierosinātāja <i>P. striiformis</i> agresīvo rasu un Latvijā audzēto kviešu šķirņu mijiedarbības izpēte lauka apstākļos.....	11
Kviešu lapu paraugu ar dzeltenās rūsas <i>P. striiformis</i> pazīmēm ievākšana, sporu pavairošana... 13	
Metodika kviešu lapu ar dzeltenās rūsas pazīmēm ievākšanai .....	13
Metodika dzeltenās rūsas <i>Puccinia striiformis</i> uredosporu pavairošanai uz kviešiem.....	14
Rezultāti .....	15
<i>P. striiformis</i> rasu identifikācija ar fenotipēšanas metodi laboratorijas apstākļos.....	16
Metodika .....	16
Rezultāti .....	17
Secinājumi.....	17
Rūsu ierosinātāju <i>Puccinia</i> spp. sastopamība uz bārbeļu <i>Berberis</i> spp. lapām .....	18
Bārbeļu augu daļu ar rūsas pazīmēm ievākšanas metodika .....	19
<i>Puccinia</i> spp. sugu identifikācijas metodika .....	21
Rezultāti .....	22
Secinājums .....	22
Toksīnu izraisošo sēņu sastopamība, sugu identificēšana auzu dīgstos un graudos.....	26
Patogēnu identifikācija pēc morfoloģiskajām pazīmēm .....	26
Patogēnu molekulārā identifikācija.....	27
Datu apstrāde .....	28
Rezultāti .....	28
Secinājumi.....	39

## Kopsavilkums

Projekta “Dzeltenās rūsas (ieros. *Puccinia striiformis*, Wes.) izplatība Latvijā un pasākumi tās postīguma ierobežošanai” pētījumi 2021. gadā veikti trīs virzienos: 1) dzeltenās rūsas ierosinātāja *P. striiformis* agresīvo rasu un Latvijā audzēto kviešu šķirņu mijiedarbības izpēte; 2) *Puccinia* spp. identifikācija no bārbeļu *Berberis* spp. augu daļu paraugiem; 3) uz auzām sastopamo patogēnu identifikācija.

Siltumnīcas apstākļos novērtēta Latvijā audzēto kviešu šķirņu izturība pret dažādām *P. striiformis* rasēm. Pētījumam izmantotas šādas šķirnes: ‘Brencis’, ‘Ceylon’, ‘Fredis’, ‘Edvins’, ‘Magnifik’, ‘Olivin’, ‘Reinis’, ‘Skagen’, ‘Talsis’ un ‘Zeppelin’. Veikta mākslīgā inokulācija ar pieciem *P. striiformis* izolātiem, kas pārstāv trīs Latvijā sastopamas rases. Pēc uzskaišu veikšanas secināts, ka Latvijā audzētās kviešu šķirnes juvenilā attīstības periodā ir ieņēmīgas pret *P. striiformis* rasēm Warrior un Warrior<sup>-</sup>, daļēji ieņēmīgas pret Triticale 2015.

Paralēli šķirņu izturības izvērtējumam, Latvijas teritorijā ievāktas kviešu lapas ar *P. striiformis* pazīmēm un LLU Augu aizsardzības zinātniskajā institūtā veikta uredosporu pavairošana. Ar iegūto materiālu inficētas kviešu diferenciatoršķirnes un pēc simptomu uzskaites identificētas rases. Pētījumā izmantoti pieci *P. striiformis* izolāti, divi izolāti (Pst5, Pst7) atbilst Warrior<sup>-</sup> viens izolāts (Pst6) Warrior rasei, divi (Pst8, Pst9) nav identificēti, taču potenciāli varētu būt klasificējami kā jaunā, 2018. gadā pirmo reizi Ēģiptē konstatētā ME2018 rase.

2021. gada jūnijā apsekojot dabiskās bārbeļu audzes, stādaudzētavas, botāniskos dārzus no dažādu sugu bārbelēm ievākti 59 augu daļu paraugi ar rūsas pazīmēm. Divi paraugi ievākti no mahonijām, kas arī tiek uzskatītas par *P. striiformis* starpsaimniekiem. Salīdzināšanai pētījumā iekļauti vienpadsmit *P. striiformis* paraugi no kviešiem. Pētījums veikts sadarbībā ar Dārzkopības institūta Augu patoloģijas un entomoloģijas laboratoriju. Kopumā no bārbeļu augu daļām iegūti un sekvenčēti 107 paraugi, ITS1/5.8S/ITS2 reģionam iegūtas 100 pilna amplificētā garuma sekvences, TEF1-alfa 67, nuLSU 82. Salīdzinot ar NCBI datu bāzē pieejamām sekvencēm, noteiktas šādas sugas: *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*, *Puccinia graminis* strain HSZ0753, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* strain HSZ0679, *Puccinia graminis* f.sp. *avenae*, *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* isolate RN-20, *P. graminis* f. sp. *lolii*, *Puccinia graminis* f. sp. *lolii* strain HSZ0802, *Puccinia graminis* f. sp. *lolii* strain HSZ0802 vai *Puccinia graminis* f. sp. *dactylis* strain HSZ0928. Uz mahoniju lapām noteikts *Puccinia bromina* isolate RN-13. Kviešu dzeltenās rūsas ierosinātājs *P. striiformis* sp. *tritici* uz bārbelēm 2020. un 2021. gada sezonā nav konstatēts, bet atrastas ģenētiski radniecīgas sugas: *Puccinia* sp. AB-2012, strain 633 identificēts (10 paraugiem) un *Puccinia* AB-2012 strain 704 (5 paraugiem), kurām datu bāzēs tuvākā līdzība bija ar *P. striiformis* f. sp. *tritici*. Šo sugu izpēti nepieciešams turpināt. Latvijas teritorijā bārbeles *Berberis* spp. ir stiebru rūsas *Puccinia graminis* starpsaimnieki.

Projekta laikā turpināta 2020. gadā izveidotās auzu patogēnu tīrkultūru kolekcijas identifikācija. No auzu dīgšiem identificēti *Fusarium* 249 izolāti, pēc morfoloģisko pazīmju analīzes noteiktas 13 dažādas *Fusarium* sugas, galvenokārt, *Fusarium graminearum*, *F. oxysporum*, kas ir toksīnus veidojošas sugas. No auzu skarām identificēti 288 izolāti, pēc morfoloģiskajām pazīmēm noteiktas 12 sugas, starp kurām dominēja *F. poae*. Projekta laikā secināts, ka *Fusarium* sugu daudzveidība un sastopamības biežums būtiski atšķiras dažādos Latvijas reģionos, dažādās auzu audzēšanas saimniecībās un saimniekošanas sistēmās. Sēklas materiāla kategorija, kodināšana, fungicīdu lietošana veģetācijas periodā un augsnes apstrādes

veids ir nozīmīgi *Fusarium* sugu daudzveidību un sastopamības biežumu ietekmējoši faktori. Pētījuma rezultāti ir praktiski izmantojami turpmāko pētījumu uzdevumu izvirzīšanai, *Fusarium* ierobežošanas stratēģijas plānošanai un praktisku ieteikumu sagatavošanai auzu audzētājiem.

## Ievads

Dzeltenā rūsa (ieros. *Puccinia striiformis*) ir viena no postīgākajām kviešu slimībām, kas ir sastopama daudzviet pasaulē, tai skaitā arī Latvijā. Ieņēmīgu šķirņu sējumos tā var izraisīt pat 100 % lielus ražas zudumus. Pēdējos gados Eiropā zinātnieki ir identificējuši līdz šim nezināmas, agresīvas *P. striiformis* rases, kas ir piemērojušās siltākiem laika apstākļiem, veido vairāk sporu, tām ir īsāks miera periods, tādējādi jaunās rases rada lielāku apdraudējumu graudaugu sējumos, nekā rases, kas bija sastopamas iepriekš. Citu valstu institūtu pētījumi liecina, ka rasu sastāvs ikgadēji ir mainīgs, par Latvijas teritorijā sastopamajām *P. striiformis* rasēm informācija ir nepilnīga. Katrai no rasēm var būt atšķirīgi virulences gēni, tāpēc arī to mijiedarbība ar dažādu kviešu šķirņu rezistences gēniem atšķiras. Sekmīgai dzeltenās rūsas ierobežošanai ir nepieciešams noskaidrot *P. striiformis* rasu sastāvu Latvijā. *P. striiformis* izplatību ierobežo izturīgu šķirņu audzēšana. Par Latvijā audzēto kviešu šķirņu reakciju uz *P. striiformis* iedarbību informācijas ir maz. Turpmāk būtu nepieciešams noskaidrot, kuras no Latvijā audzētajām šķirnēm ir izturīgas pret dzelteno rūsu, īpaši nozīmīga šī informācija ir lauksaimniekiem, kas saimnieko pēc bioloģiskajiem augu audzēšanas pamatprincipiem.

Bārbeles *Berberis* spp. ir zināmas kā *P. striiformis* starpsaimnieks, uz tām norisinās patogēna dzimumiskais attīstības cikls. Kviešus var inficēt gan uredosporas, kas veidojošās bezdzimumiskajā attīstības ciklā uz kviešiem, gan ecīdijsporas, kas veidojas uz bārbelēm. Līdz šim nav noskaidrots, kāda ir bārbeļu loma *P. striiformis* attīstības ciklā Latvijas klimatiskajos apstākļos. Eiropā valda uzskats, ka dzimumiskajā attīstības ciklā var notikt ģenētiskas izmaiņas, kas ietekmē patogēna agresivitāti. Projekta laikā identificētās *Puccinia* spp. sugas no bārbeļu augu daļu paraugiem sniegs informāciju, vai bārbelēm ir nozīmīga loma *P. striiformis* attīstības ciklā Latvijas klimatiskajos apstākļos.

Auzas *Avena sativa* ir Latvijā audzēts graudaugs, kura sējplatībām pēdējos gados ir tendence palielināties. Auzas audzē pārtikas ieguvei, kā arī zaļmasai. Tās ir uzturvielām, vitamīniem bagāts pārtikas avots, un līdz ar sabiedrības pieaugošo interesi par veselīgu uzturu, pieaug arī pieprasījums pēc auzu produktiem. Lai gan auzas tiek uzskatītas par izturīgām pret dažādiem patogēniem, pēdējos gados slimības auzu sējumos novērotas arvien biežāk. Līdz šim nav zināma detalizēta informācija par uz auzām sastopamo patogēnu spektru Latvijas klimatiskajos apstākļos un to ietekmi uz graudu kvalitāti un ražas lielumu. Īpaši nozīmīga šī informācija ir bioloģiskajiem lauksaimniekiem, kā arī graudu pārstrādes uzņēmumiem. Identificējot uz auzu augu daļām sastopamos patogēnus turpmāk būs iespējams izstrādāt metodes savlaicīgai to ierobežošanai, kā rezultātā iegūt augstākas ražas un kvalitatīvākus graudus.

### Projekta mērķi:

1. Dzeltenās rūsas ierosinātāja *P. striiformis* agresīvo rasu un Latvijā audzēto kviešu šķirņu mijiedarbības izpēte.
2. *Puccinia* spp. identifikācija no bārbeļu *Berberis* spp. augu daļu paraugiem.
3. Uz auzām sastopamo patogēnu identifikācija.

### Projekta uzdevumi 2021. gadam:

1. Dzeltenās rūsas ierosinātāja *P. striiformis* f.sp. *tritici* agresīvo rasu un Latvijā audzēto kviešu šķirņu mijiedarbības izpēte.

- 1.1. Kviešu lapu paraugu ar dzeltenās rūsas *P. striiformis* f.sp. *tritici* pazīmēm ievākšana, sporu pavairošana.
- 1.2. *P. striiformis* f.sp. *tritici* rasu identifikācija ar fenotipēšanas metodi laboratorijas apstākļos.
- 1.3. Latvijā audzēto kviešu šķirņu izturības pārbaude pret dažādām *P. striiformis* f.sp. *tritici* rasēm laboratorijas apstākļos.
- 1.4. Latvijā audzēto kviešu šķirņu izturības pārbaude pret dažādām *P. striiformis* f.sp. *tritici* rasēm lauka apstākļos.
2. *Puccinia* spp. identifikācija no bārbeļu augu daļu paraugiem.
  - 2.1. Bārbeļu augu daļu ar *Puccinia* pazīmēm ievākšana visā Latvijas teritorijā.
  - 2.2. *Puccinia* spp. DNS izdalīšana no ievāktajiem bārbeļu augu daļu paraugiem.
  - 2.3. 1-3 genoma reģionu PCR amplifikācija, sekvencēšana un analīze
3. Uz auzām sastopamo patogēnu identifikācija, tīrkultūras kolekcijas izveidošana un datu analīze.
  - 3.1. 2020. gadā izveidotās kolekcijas izolātu identifikācija un atlase ģenētiskajām analīzēm.
  - 3.2. Lauka datu, no auzu paraugu ievākšanas vietām, detalizēta analīze un sasaiste ar identificētajām sēņu sugām.
4. Iegūto datu apkopošana un atskaites sagatavošana.

## **Dzeltenās rūsas ierosinātāja *P. striiformis* agresīvo rasu un Latvijā audzēto kviešu šķirņu mijiedarbības izpēte laboratorijas apstākļos**

2021. gadā turpināta iepriekšējā gadā uzsāktā *P. striiformis* agresīvo rasu un Latvijā audzētu kviešu šķirņu mijiedarbības izpēte. Veicot vairāk eksperimenta atkārtojumus, iespējams iegūt plašākus un precīzākus rezultātus. Izpētei izmantota 2020. gadā izveidotā un pielietotā metodika.

### **Metodika**

Pētījumi kontrolētos apstākļos visprecīzāk atklāj patogēna ietekmi uz augu, tāpēc Latvijā audzēto kviešu šķirņu izturības pārbaudei kā pētījuma vieta izvēlēta LLU Augu aizsardzības zinātniskā institūta “Agrihorts” siltumnīca. Pētījumam izmantotas desmit Latvijā audzētas kviešu šķirnes: ‘Brencis’, ‘Ceylon’, ‘Edvins’, ‘Fredis’, ‘Magnifik’, ‘Olivin’, ‘Reinis’, ‘Skagen’, ‘Talsis’ un ‘Zeppelin’. Kviešu sēklas iegūtas no AREI Stendes pētniecības centra.

Pētījumā izmantoti četri no Plant Breeding and Acclimatization Institute (IHAR, Polija) iegūti *P. striiformis* agresīvo rasu izolāti: Pst18-64 (Warrior -), Pst19-46 un Pst19-63 (Warrior), Pst18-65 (Triticale 2015), un viens izolāts, kas atsūtīts no Global Rust Reference Centre (GRRC, Dānija) – LV 54-17 Amb (Warrior). Visi izmantotie izolāti ir molekulāri identificēti un iepriekš konstatēti arī Latvijas teritorijā. Saņemtās *P. striiformis* sporas uzglabātas saldētavā  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūrā, pirms izmantošanas tās 2 minūtes karsētas ūdens vannā  $+42\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūrā.

Kopumā gan 2020., gan 2021. gadā ar katru *P. striiformis* izolātu kviešu šķirnes inficētas divas reizes divos atkārtojumos. Vienā reizē inficēti divdesmit podiņi ar kviešiem (divi no katras šķirnes). Plastmasas podiņos  $7\times 7\times 6.5$  cm izmērā iepildīts kviešu audzēšanai piemērots Pindstrup kūdras substrāts, katrā podiņā ievietotas 5 (2021. gadā) – 8 (2020. gadā) sēklas. Augiem siltumnīcā nodrošināti šādi apstākļi: gaisa temperatūra dienā  $+17\text{ }^{\circ}\text{C}$  (16 stundas), naktī  $+12\text{ }^{\circ}\text{C}$  (8 stundas), relatīvais mitrums 70 – 80 %, gaismas daudzums dienā 10 000 lx. Pēc aptuveni divu nedēļu veģetācijas perioda, kad otrā auga lapa ir izaugusi līdz pusei, kvieši inficēti ar *P. striiformis* izolātiem. Augi apstrādāti ar smidzinātāja (Air brush spray gun) palīdzību. Vienai paplātei ar divdesmit podiņiem izmantoti 10 mg sporu un 5ml Novex 7100 šķīduma, kas pirms apstrādes sajaukti kopā. Pēc inficēšanas ar izolātiem, augiem papildus uzsmidzināts ūdens, tie ievietoti kastē ar vāku un nolikti augu audzēšanas kamerā tumsā,  $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$  uz 24 stundām. Pēc tam augi pārvietoti uz siltumnīcu, nodalot atsevišķi ar atšķirīgiem izolātiem apstrādātos. Trīs nedēļas pēc inficēšanās veiktas uzskaites (1. pielikums, dzeltenās rūsas pazīmju novērtējuma veidlapa), papildus dzeltenās rūsas pazīmes dokumentētas fotogrāfijās. Uzskaitēs izmantota starptautiska 0 – 9 pazīmju vērtēšanas skala (1. attēls), kur 0 parāda izturīgu augu, bet 9 stipri inficētu.





1.attēls. Pazīmju vērtēšanas skala (<sup>1</sup>Howmöller *et al.* 2017).

## Rezultāti

Trīs nedēļas pēc inficēšanas veikts slimības pazīmju novērtējums, rezultāti apkopoti tabulā (Tabula 1). Dati parāda vidējo rezultātu, veicot četrus eksperimenta atkārtojumus. Tabulā rezultātu salīdzināšanai parādīti arī dati no 2020. gada eksperimenta.

Tabula 1. *P. striiformis* rasu virulences uz Latvijā audzēto kviešu šķirņēm (+ virulents, (+) daļēji virulents, – avirulents) 2020. un 2021. gadā.

Kviešu šķirne	<i>P. striiformis</i> izolāts (rase)									
	Pst18-64 (Warrior -)		Pst18-65 (Triticale 2015)		LV 54-17 Amb (Warrior)		Pst19-46 (Warrior)		Pst19-63 (Warrior)	
	2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021
Brencis	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+
Ceylon	+	+	(+)	–	+	+	+	+	+	+
Edvins,	+	+	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+
Fredis	+	+	–	(+)	+	+	+	+	+	+
Magnifik	+	+	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+
Olivin	+	+	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+
Reinis	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+
Skagen	+	+	(+)	–	+	+	+	+	+	+
Talsis	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+
Zeppelin	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+

Apskatot divu gadu eksperimenta rezultātus, uzskatāmi redzams, ka eksperimentā iekļautās Latvijā audzētās ziemas kviešu šķirnes ‘Brencis’, ‘Ceylon’, ‘Edvins’, ‘Fredis’, ‘Magnifik’,

<sup>1</sup>Howmöller, M.S., Rodriguez-Algaba, J., Thach, T. & Sørensen C.K. 2017. Race typing on *Puccinia striiformis* on wheat. *Wheat Rust Diseases*, 1659, 29-49.

‘Olivin’, ‘Reinis’, ‘Skagen’, ‘Talsis’ un ‘Zeppelin’ juvenilās attīstības stadijās ir ieņēmīgas pret Latvijā sastopamajām agresīvajām *P. striiformis* rasēm ‘Warrior’, ‘Warrior-’ un daļēji ieņēmīgas pret ‘Triticale 2015’.

### **Secinājumi**

Latvijā audzētās kviešu šķirnes ‘Brencis’, ‘Ceylon’, ‘Edvins’, ‘Fredis’, ‘Magnifik’, ‘Olivin’, ‘Reinis’, ‘Skagen’, ‘Talsis’ un ‘Zeppelin’ juvenilās attīstības stadijās ir ieņēmīgas pret atšķirīgām *P. striiformis* rasēm.

Jaunu, izturīgu kviešu šķirņu selekcija un audzēšana ļautu izvairīties no epidēmijām nākotnē un ierobežotu *P. striiformis* izplatību Latvijas teritorijā, īpaši bioloģiskajos sējumos.

## Dzeltenās rūsas ierosinātāja *P. striiformis* agresīvo rasu un Latvijā audzēto kviešu šķirņu mijiedarbības izpēte lauka apstākļos

Vienlaikus pētījumiem laboratorijā Latvijā audzēto kviešu šķirņu un *P. striiformis* agresīvo rasu mijiedarbības novērojumi veikti arī lauka apstākļos. Pētījums veikts AREI Stendes Pētniecības centrā. Maijā, augu cerošanas laikā ziemas kviešu šķirnēm 'Brencis', 'Ceylon', 'Edvins', 'Fredis', 'Reinis', 'Skagen', 'Talsis' un 'Zeppelin' veikta mākslīgā inokulācija ar *P. striiformis* rasi 'ME 2018', kuras sporas ievāktas 2020. gadā Dižstendē un līdz inficēšanas brīdim uzglabātas  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūrā. Daļa no ievāktā materiāla 2020. gadā nosūtīta uz Dāniju Global Rust Reference Centre (GRRC) rases identifikācijai. Augi apstrādāti ar rokas smidzinātāja palīdzību, izmantojot sporu un Novec 7100 šķīduma maisījumu. Pēc inficēšanas augiem papildus uzsmidzināts ūdens. Novērojumi uzsākti 10 dienas pēc inokulācijas un ar 7 dienu intervālu līdz veģetācijas beigām.

### Rezultāti

Veģetācijas sezonas laikā apsekojot sējumus izteiktas dzeltenās rūsas pazīmes un sporulācija novērota uz ziemas kviešu šķirnēm 'Brencis', 'Edvins', 'Fredis', 'Talsis' (2.attēls). Daļēji ieņēmīga reakcija – hlorotiski un nekrotiski plankumi novēroti šķirnēm 'Ceylon', 'Reinis' un 'Skagen', bet šķirnei 'Zeppelin' netika novērotas slimības pazīmes (3.attēls).



2.attēls. *P. striiformis* sporulācija uz ziemas kviešu lapām.



3.attēls. Izturīgu, daļēji izturīgu ziemas kviešu šķirņu reakcija uz *P. striiformis* infekciju.

### Secinājumi

Latvijā audzētās ziemas kviešu šķirnes 'Brencis', 'Edvins', 'Fredis', 'Talsis' lauka apstākļos ir ieņēmīgas pret *P. striiformis* agresīvo rasi 'ME2018'. Šķirnes 'Ceylon', 'Reinis' un 'Skagen' daļēji izturīgas, bet 'Zeppelin' izturīga.

## Kviešu lapu paraugu ar dzeltenās rūsas *P. striiformis* pazīmēm ievākšana, sporu pavairošana

Projekta ietvaros 2021. gada veģetācijas sezonā ievāktas kviešu lapas ar dzeltenās rūsas pazīmēm, kā arī *P. striiformis* uredosporas. Ievāktais materiāls izmantots *P. striiformis* rasu identifikācijā ar fenotipēšanas metodi un sporu kolekcijas izveidei turpmākiem pētījumiem.

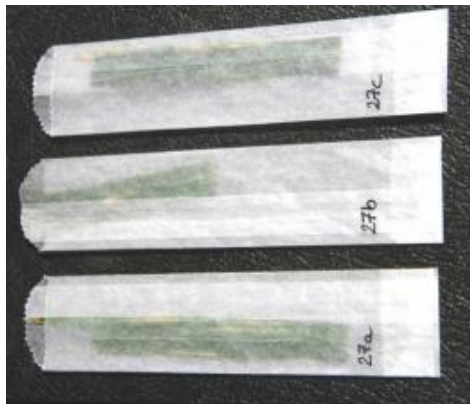
### Metodika kviešu lapu ar dzeltenās rūsas pazīmēm ievākšanai

Paraugu ievākšana veikta pēc Global Rust Reference Center (Dānija) izstrādātajiem ieteikumiem: [https://agro.au.dk/fileadmin/GRRC\\_Submission\\_of\\_samples\\_NewMay2016.pdf](https://agro.au.dk/fileadmin/GRRC_Submission_of_samples_NewMay2016.pdf)

No katra sējuma ievāktas vismaz piecas, zaļas kviešu lapas ar acīm redzamām *P. striiformis* pazīmēm (4.attēls) bez citu patogēnu klātbūtnes. Lapas pārlocītas uz pusēm un ievietotas papīra maisiņos (5.attēls), kas vēlāk novietoti zem spiedes istabas temperatūrā uz 24 stundām. Papildus ievākta informācija par paraugu ievākšanas datumu, lauka koordinātām, kviešu šķirni, augu attīstības etapu (BBCH), kura auga lapa ir ievākta, fungicīdiem (ir lietoti, vai nav).



4.attēls. Kviešu lapa ar dzeltenās rūsas pazīmēm.



5.attēls. Ievākto kviešu lapu uzglabāšanas veids.

### Metodika dzeltenās rūsas *Puccinia striiformis* uredosporu pavairošanai uz kviešiem

Nedēļas laikā pēc paraugu ievākšanas kviešu lapu fragmenti ar redzamām slimības pazīmēm ievietoti Petri platēs uz filtrpapīra, uz kura uzpilināts ~3 ml destilēts ūdens (6.attēls). Petri plates ar kviešu lapu fragmentiem ievietotas augu audzēšanas kamerā uz 12 stundām: gaisa temperatūra +17 °C, gaisa mitrums 70 %, gaismas daudzums 10 000 lx. Šādos apstākļos veicināta sporulācija, uzreiz pēc tam kviešu lapu fragmenti izmantoti jaunu augu inficēšanai.



6.attēls. Kviešu lapu fragmenti, uz kuriem vērojama sporulācija.

Sporu pavairošanai izmantota tā pati kviešu šķirne, no kuras iegūti paraugi. Augi ir gatavi inficēšanai aptuveni divu nedēļu vecumā, kad otrā auga lapa ir izaugusi līdz pusei (7.attēls). Iepriekš sagatavotie kviešu lapu fragmenti vairākas reizes novilkti gar veselā auga lapām, lai pārnestu sporas no inficētās lapas uz jauno augu. Pēc tam augi apsmidzināti ar ūdeni un novietoti paplātē guļus uz paliktņa. Virsū uzlikts vāks un podiņi ar kviešiem ievietoti augu audzēšanas kamerā tumsā, +10 °C uz 24 stundām. Vēlāk augi pārnesti uz siltumnīcu. Pēc desmit dienām podiņiem virsū uzlikti elpojoši, caurspīdīgi plastmasas maisiņi, kas nostiprināti ar gumiju.



7.attēls. Podiņš ar ziemas kviešiem, gatavi inficēšanai.

Trīs nedēļas pēc inficēšanas uzsākts vākt *P. striiformis* uredosporas. Darbs veikts sterilos apstākļos laminārajā boksā, dezinficējot vidi un instrumentus pēc katra parauga. Podiņš ar inficētajiem augiem sagāzts guļus, vienlaikus ar roku saspiežot maisiņu ap augsni, tādējādi novēršot augsnes daļiņu nokļūšanu maisiņa galā. Augu lapas caur maisiņu sakratītas, lai sporas nobirst no kviešu lapām un uzkrājas vienā no maisiņa stūriem (8.attēls). Ar dezinficētām šķērēm nogriezts maisiņa stūris un sporas izkratītas uz salocīta pergamenta papīra, pēc tam iebērtas aukstumizturīgā trauciņā. Maisiņa stūris aizlīmēts ar uzlīmi un pieskavots, podiņš novietots atpakaļ siltumnīcā, lai pēc nedēļas veiktu atkārtotu sporu novākšanu. Trauciņš ar uredosporām uz dažām dienām ievietots desikatorā istabas temperatūrā, lai veicinātu sporu izžūšanu. Pēc žāvēšanas sporas uzglabātas saldētavā  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



8.attēls. *P. striiformis* uredosporas pirms novākšanas.

Gadījumos, kad sējumos novērota stipra infekcijas pakāpe, *P. striiformis* uredosporas lauka apstākļos uzreiz ievāktas trauciņos, vēlāk izžāvētas desikatorā un ievietotas saldētavā  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## Rezultāti

2021. gada veģetācijas sezonā ievākti un pavairoti pieci *P. striiformis* izolāti. Ievākšanas vieta: AREI Stendes pētniecības centrs, ziemas kviešu šķirnes Fredis (identifikācijas nr. Pst5, Pst8), Edvins (Pst6, Pst9), Talsis (Pst7).

## ***P. striiformis* rasu identifikācija ar fenotipēšanas metodi laboratorijas apstākļos**

Viena no plašāk pielietotajām *P. striiformis* rasu identifikācijas metodēm ir fenotipēšana. Tās princips balstās uz kviešu diferenciatoršķirņu inficēšanu ar *P. striiformis* uredosporām un slimības pazīmju vērtēšanu. Katra no diferenciatoršķirnēm satur zināmus rezidences gēnus, kas mijiedarbojoties ar patogēna virulences gēniem (2. pielikums) veido vai, rezistences gadījumā, neveido vizuālus simptomus uz augs lapām, kā rezultātā var noteikt *P. striiformis* rasi.

### **Metodika**

*P. striiformis* rasu identifikācijai ar fenotipēšanas metodi izmantota 2020. gadā izveidotā metodika. Pētījumam izmantots starptautiski atzīts diferenciatoršķirņu komplekts, kas ietver 20 ziemas un vasaras kviešu šķirnes ar zināmiem rezidences gēniem (Tabula 2). Kviešu šķirņu sēklas iegūtas no The Plant Breeding and Acclimatization Institute, Polijā.

Tabula 2. Kviešu diferenciatoršķirņu komplekts *P. striiformis* rasu identifikācijai.

<b>Nr.p.k.</b>	<b>Kviešu šķirnes</b>	<b>Rezidences gēni</b>	<b>Kvieši veids</b>
1.	Ambition	Amb	ziemas
2.	Avocet Yr6	Yr6, AvS	vasaras
3.	Avocet Yr8	Yr8	vasaras
4.	Avocet Yr9	Yr9, AvS	vasaras
5.	Avocet Yr17	Yr17, AvS, +	vasaras
6.	Avocet S	YrS	vasaras
7.	Avocet YrSp	Yr1, Yr18, AvS	vasaras
8.	Carstens V	Yr25, Yr32, +	ziemas
9.	Cartago	nav	ziemas
10.	Chinese 166	Yr1	ziemas
11.	Cortez	Yr15	ziemas
12.	Heines Kolben	Yr2, Yr25, +	ziemas
13.	Hybrid 46	Yr4, +	ziemas
14.	Kalyansona	Yr2, +	vasaras
15.	Lee	Yr7, +	vasaras
16.	Moro	Yr10	ziemas
17.	Opata	Yr18, Yr27, +	vasaras
18.	TP 981	Yr25, +	vasaras/ziemas
19.	Vilmorin 23	Yr3, +	ziemas
20.	VPM1	Yr17, +	ziemas

Kvieši audzēti Pindstrup kūdras substrātā, podiņā ievietojot 5 sēklas no katras diferenciatoršķirnes. Augiem siltumnīcā nodrošināti šādi apstākļi: gaisa temperatūra dienā +17 °C (16 stundas), naktī +12 °C (8 stundas), relatīvais mitrums 70 – 80 %, gaismas daudzums dienā



10 000 lx. Divas nedēļas pēc sējas, augi inficēti ar Latvijā ievāktajām/pavairotajām *P. striiformis* uredosporām (inficēšanas metodi skatīt 8. lpp.).

Kviešu inficēšanai izmantoti pieci *P. striiformis* izolāti, kas 2021. gada veģetācijas sezonā ievākti Latvijā teritorijā: Pst5, Pst6, Pst7, Pst8, Pst9.

## Rezultāti

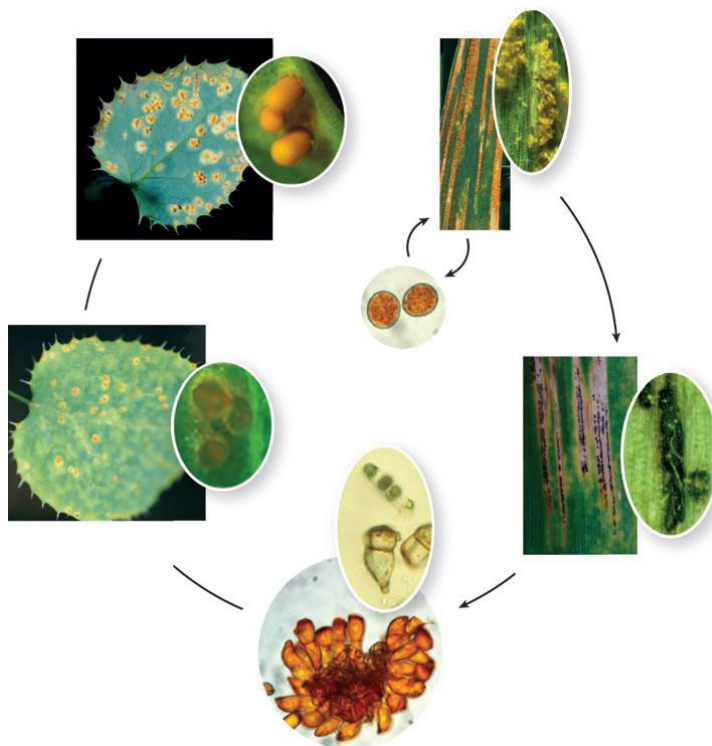
Iegūtie rezultāti apskatāmi 3., 4., 5., 6. un 7. pielikumā. Analizējot uzskaišu datus un salīdzinot tos ar *P. striiformis* rasu virulences fenotipiem (2. pielikums) secināts, ka divi izolāti (Pst5, Pst7) atbilst Warrior viena (Pst6) Warrior rasei. Divi izolāti – Pst8 un Pst9 neatbilst nevienam līdz šim zināmajam *P. striiformis* rasu virulences fenotipam. Ņemot vērā informāciju, ka no 2020. gadā Stendes Pētniecības centra ziemas kviešu Fredis sējuma ievāktajiem paraugiem Dānijā, GRRC izdalīta jauna, līdz šim tikai Ēģiptē konstatēta *P. striiformis* ģenētiskā grupa (provizoriski ME2018, pilns ziņojums atrodams [https://agro.au.dk/fileadmin/www.grcc.au.dk/International\\_Services/Pathotype\\_YR\\_results/GRR\\_C\\_annual\\_report\\_2020.pdf](https://agro.au.dk/fileadmin/www.grcc.au.dk/International_Services/Pathotype_YR_results/GRR_C_annual_report_2020.pdf)), var izdarīt pieņēmumu, ka ievāktie izolāti Pst8 un Pst9 iespējams pieder iepriekš minētajai ģenētiskajai grupai.

## Secinājumi

Latvijā ir sastopamas agresīvas *P. striiformis* rases, kas pieder PstS10 un PstS7 ģenētiskajai grupai. Identificētās rases ir potenciāli bīstamas un spēj izraisīt epidēmijas. Ņemot vērā patogēna ģenētisko mainību, rasu izplatības monitorings būtu jāveic katru gadu. Jaunu *P. striiformis* ģenētisko grupu parādīšanās Latvijā teritorijā liecina par piemērotiem apstākļiem patogēna attīstībai un ģenētiskajām izmaiņām.

## Rūsu ierosinātāju *Puccinia* spp. sastopamība uz bārbeļu *Berberis* spp. lapām

*P. striiformis* ir patogēns ar sarežģītu attīstības ciklu (9.attēls). Tā primārais saimnieks ir kvieši, tritikāle un citas graudzāles, piemēram, parastā kamolzāle *Dactylis glomerata*, savukārt starpsaimnieks var būt dažādu sugu bārbeles: *Berberis chinensis*, *B. koreana*, *B. holstii*, *B. vulgaris*, *B. shensiana*, *B. potaninii*, *B. dolichobotrys* u.c. kā arī mahonijas, piemēram, parastā mahonija *Mahonia aquifolium*. Uz primārā saimniekauga iespējams atrast trīs sporu veidus: uredosporas, teleitosporas un bazīdijsporas, bet uz sekundārā divus: spermācijas un ecīdijsporas. *P. striiformis* spēj inficēt primāro saimnieku ar uredosporām, taču pastāv uzskats, ka izejot pilnu attīstības ciklu, tā agresivitāte palielinās un ir lielāka varbūtība jaunu rasu izveidei.



9.attēls. *P. striiformis* attīstības cikls (<sup>2</sup>Hovmöller *et al.*, 2011).

Šobrīd pieejamā informācija par patogēnu sugu sastāvu uz bārbelēm Latvijā ir fragmentāra. Uz bārbeļu augu daļām sastopamo patogēnu identifikācija sniegs atbildi, vai bārbele ir *P. striiformis* starpsaimnieks Latvijas teritorijā.

<sup>2</sup> Hovmöller, M.S., Sørensen, C.K., Walter, S., & Justesen, A.F. (2011). Diversity of *Puccinia striiformis* on cereals and grasses. *Annual Review of Phytopathology*, 49(1), 197–217. DOI: 10.1146/annurev-phyto-072910-095230.

### Bārbeļu augu daļu ar rūsas pazīmēm ievākšanas metodika

2020. gadā no parastās bārbeles *B. vulgaris* krūmiem ievākti bārbeļu lapu paraugi ar rūsas pazīmēm, savukārt 2021. gadā uzmanība pievērsta arī citu sugu bārbelēm, tai skaitā dekoratīvajām. Paraugi abos gados ievākti pēc 2020. gadā izveidotās metodikas, kurā izmantoti GGRC izstrādātie ieteikumi un fotogrāfijas.

No katra krūma ievāktas vismaz 5 (ja nav, tad mazāk) bārbeļu lapas ar rūsas pazīmēm (10.,11., 12., 13.attēls). Priekšroka dota lapām ar ecīdijām.



10.attēls. Bārbeles lapas apakšpuse.



11.attēls. Bārbeles lapas apakšpuse ar ecīdijām.



12.attēls. Rūsa uz bārbeles lapām.



13. attēls. Noslēgtas ecīdijas un bārbeles lapas.

Lapas vai augu daļas no viena krūma ievietotas atsevišķā gaisu caurlaidīgā papīra maisiņā, paraugam piešķirts numurs. Aploksnes ar paraugiem novietotas zem sloga un izžāvētas.

Par katru ievāktu paraugu ievākota un apkopota informācija: paraugu ievākšanas datums, bārbeles atrašanās vietas koordinātas, īss krūma un atrašanās vietas raksturojums (piemēram, lielākā daļa lapu inficētas ar rūsu, šobrīd zied, atrodas pilsētas parkā).

Ievākšanas procesa laikā uzņemtas fotogrāfijas – bārbeles lapas, ērkšķi, ziedi, augļi, kas vēlāk var kalpot kā līdzeklis bārbeles sugas identifikācijai.

Paraugi ievākti dažādās vietās Latvijas teritorijā, 2020. gadā apsektas dabiskās audzes un pilsētu apstādījumi, bet 2021. gadā papildus zināmajām atradnēm paraugi iegūti no stādaudzētavām, botāniskajiem dārziem (14.attēls). 2020. gadā ievākti un analizēti 54 bārbeļu augu daļu paraugi, 2021. gadā 61 paraugs ar rūsas pazīmēm. Paraugi ievākti no *Berberis vulgaris*,

*Berberis integrima x vulgaris*, *Berberis lycium x vulgaris*, *Berberis virescens x vulgaris*, *Berberis x bidentata*, *Berberis canadensis*, *Berberis chopinii*, *Berberis declinata*, *Berberis heteropoda*, *Berberis koreana*, *Berberis laxiflora*, *Berberis thunbergii*, *Berberis ottawensis*, *Berberis regliana*, kā arī *Berberis spp.* Viens paraugs ievākts no *Mahonia aquifolium*, viens no *Mahonia repens x aquifolium*.



14.attēls. Bārbeļu augu daļu paraugu ievākšanas vietas Latvijas teritorijā 2020. (ar sarkanu krāsu) un 2021. (ar zilu krāsu) gadā.

## **Puccinia spp. sugu identifikācijas metodika**

Projekta mērķu sasniegšanai izmantota I. Moročko-Bičevskas izstrādātā metodika bārbeļu augu daļu ar rūsas pazīmēm paraugu sagatavošanai, DNS izdalīšanai, PCR produktu sagatavošanai, amplifikācijai, PCR produktu attīrīšanai un sagatavošanai sekvencēšanai. Paraugu sagatavošana līdz sekvencēšanai (DNS izdalīšana, PCR amplifikācija un attīrīšana) veikta Dārzkopības institūta Augu patoloģijas un entomoloģijas nodaļas laboratorijā. Sekvencēšana veikta Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā kā ārpalpojums.

Ievākie bārbeļu augu daļu paraugi ar rūsas pazīmēm izšķiroti un atlasīti kvalitatīvākie, ar izteiktākiem rūsas simptomiem. Abos gados izmantota atšķirīga paraugu apstrādes un DNS izdalīšanas metodika. 2020. gadā sēnes struktūras ar sterilu skalpeli izgrieztas no auga daļām un pārnestas Petri platē. Paraugiem piešķirts numurs. Darbā laikā ievērota sterilitāte, instrumenti dezinficēti pēc katra parauga. Sēnes struktūras pārnestas sterilā, atdzesētā piestā un sasmalcinātas pulverī, izmantojot šķidro slāpekli un piestu. Sasmalcinātais materiāls ar spatulu pārnestas atdzesētā 2 ml Eppendorfa stobriņā un uzglabātas saldētavā  $-80^{\circ}\text{C}$  līdz turpmākajām manipulācijām. Tālāk veikta DNS izdalīšana, izmantojot *Qiagen DNeasy Plant Mini kit* DNS izdalīšanas reaģentu komplektu, sekojot ražotāja instrukcijām un sākot ar 7. soli protokolā. (*Protocol: Purification of total DNA from plant tissue (Mini Protocol)*). Izdalītā DNS šķīdumi nekavējoties novietoti uz ledus. Noteikta DNS koncentrācija, izmantojot Nanodrop 1000 iekārtu. DNS uzglabāti saldētavā  $-20^{\circ}\text{C}$ .

2021. gadā sēnes struktūras ar sterilu skalpeli nogrieztas no lapas un pārnestas 0.5 ml sterilā Eppendorf mēģenē, kurā iepildīti 30 – 50  $\mu\text{l}$  atšķaidīšanas bufera. Atsevišķos gadījumos mēģenē pārnestas sporas. Lai novērstu kontaminācijas risku, pēc katra parauga izmatotie instrumenti un virsma dezinficēta ar 70% etanola šķīdumu. Buferis ar sēnes struktūrām vorteksēts un turēts istabas temperatūrā 3 minūtes. Pēc tam šķīdums 2 minūtes inkubēts  $98^{\circ}\text{C}$ , inkubācijas laikā šķīdums samaisīts invertējot stobriņu. Veikta viegla centrifugācija, pēc kuras stobriņš novietots uz ledus. Pēc tam stobriņi novietoti uzglabāšanai saldētavā  $-20^{\circ}\text{C}$ .

ITS1/5.8S/ITS2/28S reģiona PCR amplifikācija veikta, izmantojot ITS5 un Rust1 praimerus (Driessen et al., 2004), Dream Taq PCR Master Mix 2x vai Phire Hot Start II polimerāzi un augu materiālam pielāgotu polimerāzes buferi. Amplikona garums  $\sim 1300$  bp.

Daļēja TEF1-alfa PCR amplifikācija veikta, izmantojot EF1-728F un EF1-1567R praimerus (<sup>2</sup> Rehner, 2001), Dream Taq PCR Master Mix 2x vai Phire Hot Start II polimerāzi un augu materiālam pielāgotu polimerāzes buferi. Amplikona garums  $\sim 1200$  bp.

Daļēja nuLSU PCR amplifikācija veikta, izmantojot LR0R un LR6 praimerus (<sup>3</sup> Vilgalys & Hester, 1990), Dream Taq PCR Master Mix 2x vai Phire Hot Start II polimerāzi un augu materiālam pielāgotu polimerāzes buferi. Amplikona garums  $\sim 1000$  bp.

---

<sup>2</sup> Rehner, S. (2001). Primers for elongation factor 1-a (EF1-a). <http://www.aftol.org/pdfs.EF1primer.pdf>.

<sup>3</sup> Vilgalys, R., & Hester, M. (1990). Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of bacteriology*, 172(8), 4238-4246. <https://doi.org/10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990>

Elektroforēze veikta 1.5 % agarozes gēlā 1x TBE buferī, kam pievienots etīdija bromīda šķīdums. Gēlā ielikti 8 ul PCR produkta un 5 ul garuma marķieri. Nepieciešamības gadījumā PCR produktiem pievienota krāsviela – 3 ul 6x Orange LD. Aptuvenais fragmentu garums noteikts, izmantojot garuma standartu – GeneRuler™ 100 bp DNA ladder Plus, ready-to-use. Gēla attēli digitāli dokumentēti.

Atbilstošie PCR produkti attīrīti, izmantojot *QIAquick PCR Purification kit* (Qiagen) reaģentu komplektu, sekojot ražotāja instrukcijām (*Protokols: QIAquick PCR Purification Kit Protocol using a micro centrifuge*). PCR produktu koncentrācijas un tīrības pakāpes noteikšana veikta, izmantojot Nanodrop 1000.

Sekvencēšana veikta Latvijas Biomedicīnas un pētījumu studiju centrā kā ārpakalpojums. Lai izvēlētos piemērotākos ITS1/5.8S/ITS2 sekvencēšanas praimerus, pieciem paraugiem izmantoti septiņi praimeru – ITS5, Rust1, Rust2, Rust3, ITS4, ITS2-P, IT3 (Gardes & Bruns, 1993; White et al., 1990; Driessen et al., 2004). Kā piemērotākie izvēlēti un pārējiem paraugiem izmantoti četri praimeru: ITS5, Rust1, ITS4, Rust3.

TEF1-alfa sekvencēšanas praimeru pārbaudei pieciem paraugiem izmantoti četri praimeru – EF1-728F, EF1-1567R, EF1-983F, EfDf (Rehner, 2001), no kuriem pārējiem paraugiem izmantoti EF1-728F, EF1-1567R, EF1-983F.

nuLSU sekvencēšanas praimeru pārbaudei septiņiem paraugiem izmantoti septiņi praimeru – LR0R, LR6, LR5, LR3R, LR3, NL1, NL4 (Vilgalys & Hester, 1990). Kā piemērotākie izvēlēti un pārējiem paraugiem izmantoti divi praimeru: LR3 un LR6.

Sekvenču asemblija veikta, izmantojot datorprogrammu paketi Lasergene 14. Filoģenētiskās analīzes veiktas ar datorprogrammu PAUP.

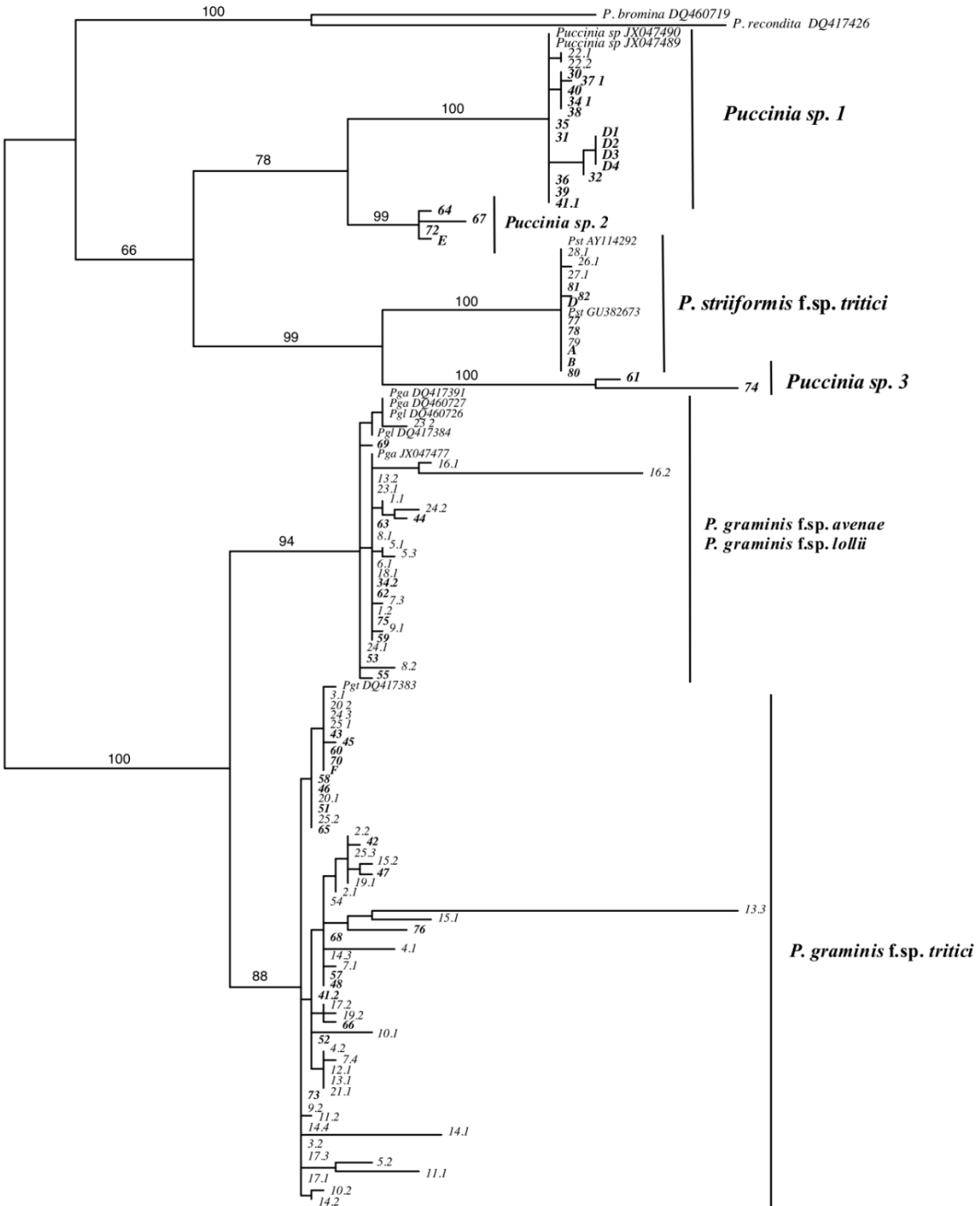
## Rezultāti

Pētījuma rezultāti apkopoti Tabulā 3. Kopumā no bārbeļu augu daļām iegūti un sekvencēti 107 paraugi, ITS1/5.8S/ITS2 reģionam iegūtas 100 pilna amplificētā garuma sekvences, TEF1-alfa 67, nuLSU 82. Papildus sekvencēti 3 paraugi, kas iegūti no kviešu lapām ar *P. striiformis* pazīmēm un 8 *P. striiformis* uredosporu paraugi. Analizējot sekvences un salīdzinot ar NCBI datu bāzē pieejamām sekvencēm, noteiktas šādas sugas: *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*, *Puccinia graminis* strain HSZ0753, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* strain HSZ0679, *Puccinia graminis* f.sp. *avenae*, *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* isolate RN-20, *P. graminis* f. sp. *lolii*, *Puccinia graminis* f. sp. *lolii* strain HSZ0802, *Puccinia graminis* f. sp. *lolii* strain HSZ0802 vai *Puccinia graminis* f. sp. *dactylis* strain HSZ0928. Uz mahoniju lapām noteikts *Puccinia bromina* isolate RN-13.

Kviešu dzeltenās rūsas ierosinātājs *P. striiformis* sp. *tritici* uz bārbelēm 2020. un 2021. gada sezonā nav konstatēts, bet atrastas ģenētiski tuvi radniecīgas sugas (15.attēls), *Puccinia* sp. AB-2012, strain 633 identificēts (10 paraugiem) un *Puccinia* AB-2012 strain 704 (5 paraugiem), kurām datu bāzēs tuvākā līdzība bija ar *P. striiformis* f. sp. *tritici*. Šo sugu izpēti nepieciešams turpināt.

## Secinājums

Latvijas teritorijā bārbeles *Berberis* spp. ir stiebru rūsas *Puccinia graminis* starpsaimnieki.



— 1 change

15.attēls. *Puccinia* spp. filoģenētiskais koks konstruēts, izmantojot pilna garuma ITS1/5.8S/ITS2 un daļēja garuma 28S sekvences no 67 bārbeļu un 11 kviešu paraugiem

Tabula 3. *Puccinia* sugu identifikācija uz bārbelēm 2020. un 2021. gadā.

Nr.p.k.	Saimniekaugs, suga	Atradņu skaits	Paraugu skaits	ITS, sekvencēto paraugu skaits un identificētās sugas	TEF, sekvencēto paraugu skaits un identificētās sugas	LSU, sekvencēto paraugu skaits un identificētās sugas
1.	<i>Berberis spp.</i>	7	11	8 <i>Puccinia</i> sp. AB-2012, strain 633; <i>Puccinia</i> AB-2012 strain 704 <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> strain HSZ0679	8 <i>Puccinia arrhenatheri</i> isolate O38; <i>Puccinia graminis</i> ef-1alpha gene; <i>Aureobasidium melanogenum</i> strain TN3-1	9 <i>Puccinia triticina</i> voucher DAOM:240974; <i>Puccinia graminis</i> voucher DAOM:214753
2.	<i>Berberis vulgaris</i>	31	71	70 <i>Puccinia</i> sp. AB-2012, strain 633; <i>Puccinia striiformis</i> isolate HSZ1834 (identitāte 95.85%); <i>Puccinia graminis</i> f.sp. <i>tritici</i> ; <i>Puccinia graminis</i> strain HSZ0753; <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> strain HSZ0679; <i>Puccinia graminis</i> f.sp. <i>avenae</i> ; <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>avenae</i> isolate RN-20; <i>P. graminis</i> f. sp. <i>lolii</i> strain HSZ0802	43 <i>Puccinia arrhenatheri</i> isolate O38; <i>Aureobasidium melanogenum</i> strain TN3-1; <i>Puccinia graminis</i> ef-1alpha gene	50 <i>Puccinia triticina</i> voucher DAOM:240974; <i>Uromyces acuminatus</i> strain CT-V080623-3; <i>Puccinia graminis</i> voucher DAOM:214753
3.	<i>Berberis integerrima x vulgaris</i>	1	1	1 <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>dactylis</i> strain HSZ0928/ <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>lolii</i> strain HSZ0802	–	–
4.	<i>Berberis lycium x vulgaris</i>	1	2	2 <i>Puccinia</i> sp. AB-2012, strain 633; <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>lolii</i> strain HSZ0802	1 <i>Puccinia arrhenatheri</i> isolate O38	1 <i>Puccinia brachypodii</i> voucher BRIP 59466
5.	<i>Berberis virescens x vulgaris</i>	1	1	1 <i>Puccinia</i> AB-2012 strain 704	1 <i>Aureobasidium melanogenum</i> strain TN3-1	1 <i>Puccinia brachypodii</i> voucher BRIP 59466
6.	<i>Berberis x bidentata</i>	1	2	1 <i>Puccinia</i> AB-2012 strain 633	1 <i>Puccinia arrhenatheri</i> isolate O38	2 <i>Puccinia triticina</i> voucher DAOM:240974; <i>Puccinia graminis</i> voucher DAOM:214753
7.	<i>Berberis canadensis</i>	1	2	2 <i>Puccinia</i> AB-2012 strain 704; <i>Puccinia striiformis</i> isolate HSZ1834 (identitāte 95.66%);	2 <i>Puccinia arrhenatheri</i> isolate O38; <i>Aureobasidium melanogenum</i> strain TN3-1	2 <i>Puccinia dichondrae</i> voucher BRIP 60027; <i>Puccinia graminis</i> voucher DAOM:214753



8.	<i>Berberis chopinii</i>	1	1	1 <i>Puccinia</i> AB-2012 strain 633	–	1 <i>Puccinia triticina</i> voucher DAOM:240974
9.	<i>Berberis declinata</i>	1	2	2 <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> strain HSZ0679; <i>Puccinia</i> AB-2012 strain 704	1 <i>Puccinia graminis</i> ef-1alpha gene	2 <i>Puccinia graminis</i> voucher DAOM:214753; <i>Uredo toetoe</i> voucher PDD:99175
10.	<i>Berberis heteropoda</i>	1	1	1 <i>Puccinia striiformis</i> isolate HSZ1834	–	1 <i>Puccinia graminis</i> voucher DAOM:214753
11.	<i>Berberis koreana</i>	1	1	–	1 <i>Puccinia graminis</i> ef-1alpha gene	1 <i>Puccinia graminis</i> voucher DAOM:214753
12.	<i>Berberis laxiflora</i>	1	1	1 <i>Puccinia</i> AB-2012 strain 704	1 <i>Aureobasidium pullulans</i> EXF-150	1 <i>Puccinia arenariae</i> voucher BPI 843963
13.	<i>Berberis regliana</i>	1	1	1 <i>Puccinia striiformis</i> isolate HSZ1828	1 <i>Puccinai graminis</i> ef-1alpha gene	1 <i>Puccinia graminis</i> voucher DAOM:214753
14.	<i>Berberis ottawensis</i>	3	5	5 <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> strain HSZ0679; <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>avenae</i> isolate RN-20	3 <i>Puccinai graminis</i> ef-1alpha gene; <i>Aureobasidium melanogenum</i> strain P16	5 <i>Puccinia graminis</i> voucher DAOM:214753
15.	<i>Berberis thunbergii</i>	3	3	2 <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> strain HSZ0679; <i>Puccinia striiformis</i> isolate HSZ1828 (identitate 96.88%)	3 <i>Puccinia graminis</i> ef-1alpha gene	3 <i>Puccinia graminis</i> voucher DAOM:214753; <i>Ascochyta pisi</i> isolate AFTOL-ID 1583
16.	<i>Mahonia aquifolium</i>	1	1	1 <i>Puccinia bromina</i> isolate RN-13	–	1 <i>Puccinia graminis</i> voucher DAOM:214753
17.	<i>Mahonia repens x aquifolium</i>	1	1	1 <i>Puccinia bromina</i> isolate RN-13	1 <i>Cumminsella mirabilissima</i> voucher UME LE307/04	1 <i>Puccinia triticina</i> voucher DAOM:240974

## Toksīnu izraisīto sēņu sastopamība, sugu identificēšana auzu dīgstos un graudos

Sējas auzas *Avena sativa* ir graudzāļu dzimtas kultūraugs, kas Latvijā tiek audzēts zaļmasas un pārtikas graudu ieguvei. Pēdējā desmitgadē auzu sējplatības Latvijā ir palielinājušās, kas varētu būt skaidrojams ar piemērotiem klimatiskajiem apstākļiem, auzu mazprasīgumu attiecībā uz augšanas vietu un mēslošanu, kā arī patērētāju pastiprinātu pieprasījumu pēc veselīgiem, augstvērtīgiem pārtikas produktiem. Auzas satur virkni organismam nepieciešamo uzturvielu – šķiedrvielas, aminoskābes, minerālvielas, vitamīnus, un ir zināms, ka ilgstoši tās lietojot uzturā, veselības stāvoklis var uzlaboties. Ir pieprasījums arī pēc bioloģiskajiem auzu produktiem bērnu pārtikā.

Lai gan tiek uzskatīts, ka auzas nav ieņēmīgas pret sēņu izraisītām slimībām, līdzšinējie novērojumi un citu valstu pētījumi rāda, ka tas neatbilst patiesībai. Auzu graudu kvalitāti negatīvi ietekmē *Fusarium* ģints sēnes, kas veido patērētāju veselībai bīstamus mikotoksīnus. Toksīnus var veidot arī citi auzu patogēni, piemēram, *Alternaria* spp. un *Pyrenophora* ģints sēnes. Auzu slimības negatīvi ietekmē ne tikai graudu kvalitāti, bet arī ražas daudzumu, spēcīgas infekcijas rezultātā augam būs traucēta fotosintēze, elpošana un citas svarīgas funkcijas.

Informācija par auzu patogēnu daudzveidību integrētajos un bioloģiskajos sējumos Latvijā ir nepilnīga, nav veikti detalizēti un ilgstoši pētījumi.

Ar Zemkopības Ministrijas atbalstu 2020. gada veģetācijas sezonā Latvijas teritorijā divas reizes apsekots 21 auzu sējums, katrā no tiem 10 vietās ievākti 10 dīgsti, un veģetācijas beigās 10 skaras ar redzamām slimības pazīmēm. No ievāktajiem paraugiem LLU Augu aizsardzības zinātniskā institūta laboratorijā izdalītas patogēnās sēnes, veikta izolātu grupēšana, aprakstīšana, mikroskopēšana, izveidota tīrkultūru kolekcija un veikta izolātu sākotnējā identifikācija. 44 izolāti indikatīvi identificēti sugu līmenī ar molekulārām metodēm, sekvencējot ITS1/5.8S/ITS2 reģionu. Pētījumā uz auzām konstatētas virkne graudu kvalitāti ietekmējošas patogēnās sēnes, starp kurām dominēja *Alternaria*, *Pyrenophora* un dažādas *Fusarium* sugas. Graudos identificētas vairākas toksīnus veidojošas *Fusarium* sugas – *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*.

2021. gadā projekta ietvaros plānots turpināt izdalīto patogēnu identifikāciju ar mikroskopijas un molekulāro metožu palīdzību. Iegūtā informācija sniegs ieskatu par auzu patogēnu sastopamību integrētajos un bioloģiskajos sējumos Latvijā un ļaus piemērot katrai slimībai atbilstošus ierobežošanas pasākumus.

### Patogēnu identifikācija pēc morfoloģiskajām pazīmēm

Lai varētu veikt patogēnu identifikāciju ar mikroskopēšanas palīdzību, laminārās plūsmas skapī no Bijou pudelītēm ar tīrkultūru ar sterilu mikrobioloģisko adatu paņemti nelieli micēlija fragmenti un pārnesti Petri platē ar kartupeļu dekstrozes agara barotni (PDA; *potato dextrose agar*) un sintētisko barības elementu barotni (SNA, *synthetic nutrient agar*). Veikta plašu numerācija, tās inkubētas 2 – 3 nedēļas uz laboratorijas galda istabas temperatūrā. Pirms mikroskopēšanas katra Petri plate ar sēnes micēliju fotogrāfēta – neatvērta no abām pusēm, kā arī atvērta no augšpusēs.

Mikroskopēšanā izmantots Optika B-380 sērijas mikroskops un attēlu dokumentēšanas Optika LiteView datorprogramma. Ar sterilu mikroskopijas adatu sēnes struktūras fragments no Petri plates ievietots destilēta ūdens pilienā uz priekšmetstikla, pēc nepieciešamības homogenizēts un nosepts ar segstiklu. Analizējamā sēnes struktūra izvēlēta atkarībā no taksona, priekšroka dota sporodohijiem vai micēlija fragmentam no kolonijas vidusdaļas. Sagatavotais paraugs novietots zem mikroskopa. Sākotnēji 10x palielinājumā izvēlēts labākais fragments, detalizēta analīze veikta 40x palielinājumā. Sēnes struktūras mērītas izmantojot okulāra mikrometru (viena iedaļa  $\approx 2 \mu\text{m}$ ). Lai varētu veikt precīzu sugu identifikāciju, darba procesā izmatoti dažādi mācību palīg līdzekļi, piemēram, The Fusarium Laboratory Manual<sup>5</sup>. Sugu noteikšanai izmantotas atslēgas pazīmes: micēlija koloniju morfoloģija (blīvums, izmērs, t. sk. augstums, vizuālais izskats, pigmentācija, atsevišķas (atšķirīgas) struktūras, krāsa, pigmentācija gaisa micēlijā un agarā, aromāts u.tml.), mikrokonīdiju un/vai makrokonīdiju īpašības (ir/nav, forma, izmēri, septu skaits, apikālās/bazālās šūnas forma (makrokonīdijām), sastopamības biežums u. tml.), hlamidosporu īpašības (ir/nav, forma, aptuvenie izmēri, krāsa, sakārtojums u. tml.), kā arī citas specifiskas īpašības. Nepieciešamības gadījumā atsevišķi izolāti mikroskopēti vairākkārt. Starp paraugiem izmantotie instrumenti un virsma dezinficēta ar 70% etanola šķīdumu.

Papildus parauga mikroskopēšanai, ar mikroskopā iebūvēto kameru un Optika LiteView programmu, katram izolātam katram izolātam uzņemti vismaz 4 fotoattēli.

Ja izolātiem netika labi attīstījušās makrokonīdijas un/vai mikrokonīdijas, plates kultivētas vēl aptuveni 3 līdz 5 nedēļas, pēc tam mikroskopēšana atkārtota. Ja izolātiem netika sporulācija, tie pārsēti SNA (synthetic nutrient-poor agar) barotnē un kultivēti, kā arī mikroskopēti pēc identiskas metodikas kā izolāti PDA barotnē.

### **Patogēnu molekulārā identifikācija**

Uz auzu dīgstiem un sēklām sastopamo patogēnu molekulārā identifikācija līdz sekvenčēšanai veikta LLU Augu aizsardzības zinātniskā institūta 'Agrihorts' laboratorijā. Procesa gaitā izmantota I. Moročko-Bičevskas izstrādātā metodika patogēnu identifikācijai uz auzu augu daļām. Molekulārā identifikācija uzsākta 90 izolātiem no 2020. gadā izveidotās tīrkultūru kolekcijas, kurus bija grūtības identificēt ar mikroskopēšanas palīdzību. Galvenokārt uzmanība pievērsta *Fusarium* spp. ģints sēnēm.

Molekulārās identifikācijas pirmais solis veikts laminārās plūsmas skapī ar sterilu skalpeli no Bijou pudelītēm pārnesot sēnes micēliju 0.5 ml sterilās Eppendorf mēģenēs, kurās iepildīti 30 – 50  $\mu\text{l}$  atšķaidīšanas bufera. Kontaminācijas riska novēršanai pēc katra parauga izmatotie instrumenti un virsma dezinficēta ar 70% etanola šķīdumu. Buferis ar sēnes struktūrām vorteksēts un turēts istabas temperatūrā 3 minūtes. Pēc tam šķīdums 2 minūtes inkubēts 98 °C, inkubācijas laikā šķīdums samaisīts invertējot stobriņu. Veikta viegla centrifugācija, pēc kuras stobriņi novietoti uz ledus un vēlāk pārnesti uzglabāšanai saldētavā  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

---

<sup>5</sup>Leslie, J.F., Summerell, B.A. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing, USA. 388 pp.

Daļēja TEF1-alfa PCR amplifikācija veikta, izmantojot DreamTaq PCR Green master mix un EF1-F2/EF1-R3 (<sup>6</sup> Boutigny et al., 2019) vai EF1/EF2 (<sup>7</sup> O'Donnell, 1998) praimerus. Amplikona garums ~ 700 bp.

Elektroforēze veikta 1.5 % agarozes gēlā 1x TBE buferī, kam pievienots etīdija bromīda šķīdums. Gēlā ielikts 9 ul PCR produkta un 5 ul garuma marķieri. Aptuvenais fragmentu garums noteikts, izmantojot garuma standartu - GeneRuler™ 100 bp DNA ladder, ready-to-use, 100-1000 bp. Gēla attēli digitāli dokumentēti.

Atbilstošie PCR produkti attīrīti, izmantojot *QIAquick PCR Purification kit* (Qiagen) reaģentu komplektu, sekojot ražotāja instrukcijām (*Protokols: QIAquick PCR Purification Kit Protocol using a micro centrifuge*). PCR produktu koncentrācijas un tīrības pakāpes noteikšana veikta, izmantojot BioDrop µLITE+.

Sekvencēšana veikta, izmantojot amplifikācijas praimeru, Latvijas Biomedicīnas un pētījumu studiju centrā. Sekvenču asambleija tiks veikta, izmantojot datorprogrammu paketi Lasergene 14. un iegūtās sekvences salīdzinātas ar NCBI datu bāzē pieejamām sekvencēm, lai noteiktu sugu.

## Datu apstrāde

Mikroskopēšanas laikā iegūtie dati par *Fusarium* spp. ģints sēnēm analizēti programmā MS Excel 2016. Izveidota datu matrica, kurā iekļauta informācija par izolātu izcelsmi, skaitu, identificētajām sugām, kā arī informācija par saimniecībām un sējumiem, kuros 2020. gada sezonā ievākti auzu augu daļu paraugi. Par katru saimniecību apkopoti šādi dati: reģions, saimniekošanas veids, lauka platība, sējas datums, izsējas norma, sēklas estrādes dziļums, sēklas materiāla izcelsme, kategorija, šķirne, audzēšanas mērķis, augsnes apstrādes veids, kodināšana, priekšaugi, augsnes dati, informācija par mēslošanu, un augu aizsardzības līdzekļu lietošanu. Grafiskie attēli un tabulas veidotas programmā MS Excel 2016.

Datu statistiskai apstrādei izmantota programma R 3.5.2. Pazīmju atkārtotā biežums noteikts, izmantojot R commander rīku Summaries – frequency distributions. Lai noteiktu sakarību starp ietekmējošiem faktoriem un identificēto *Fusarium* sugu daudzveidību un atkārtotā biežumu, izmantotas (Two way) kontingences tabulas. Sakarību būtiskums novērtēts ar  $\alpha=0.05$ .

## Rezultāti

No auzu dīgstiem izdalīti un identificēti pavisam 249 izolāti. Pēc morfoloģisko pazīmju analīzes noteiktas 13 dažādas *Fusarium* sugas. To procentuālais sadalījums būtiski atšķiras ( $p=0.01365$ ) atkarībā no dīgstu daļām, no kurām izolāti iegūti (Tabula 4). Visbiežāk identificētās sugas *Fusarium graminearum*, *F.oxysporum*, *F.camptoceras* un *F.armeniicum*, pirmās divas no tām – nozīmīgas toksīnus veidojošas sugas.

---

<sup>6</sup> Boutigny A-L, Gautier A, Basler R, Dauthieux F, Leite S, Valade R, et al. (2019) Metabarcoding targeting the EF1 alpha region to assess *Fusarium* diversity on cereals. PLoS ONE 14(1): e0207988. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207988>

<sup>7</sup> O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., and Ploetz, R. C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95:2044-2049.

Tabula 4. *Fusarium* sugu daudzveidība auzu dīgstos.

Identificētā <i>Fusarium</i> suga*	Izolātu skaits	Izolāti no visiem, %	Dīgsta daļa, no kuras izolēts, %			
			grauds	lapa	stiebrs	sakņu kakls
<i>F. armeniacum</i>	28	11,2	28,6	7,1	46,4	17,9
<i>F. avenaceum</i>	12	4,8	8,3	41,7	33,3	16,7
<i>F. beomiforme</i>	2	0,8	50,0	0,0	50,0	0,0
<i>F. camptoceras</i>	25	10,0	52,0	0,0	16,0	32,0
<i>F. crookwellense</i>	1	0,4	0,0	100,0	0,0	0,0
<i>F. culmorum</i>	14	5,6	35,7	14,3	21,4	28,6
<i>F. graminearum</i>	68	27,3	29,4	11,8	39,7	19,1
<i>F. oxysporum</i>	50	20,1	12,0	12,0	46,0	30,0
<i>F. poae</i>	14	5,6	42,9	21,4	7,1	28,6
<i>F. redolens</i>	18	7,2	33,3	11,1	27,8	27,8
<i>F. scirpi</i>	5	2,0	40,0	60,0	0,0	0,0
<i>F. sporotrichoides</i>	9	3,6	33,3	0,0	50,0	16,7
<i>F. tricinctum</i>	3	1,2	33,3	0,0	0,0	66,7

\* Indikatīvi noteikta pēc morfoloģiskām pazīmēm

Analizējot iegūtos datus un salīdzinot ar slimības simptomiem uz auga, var secināt, ka nodzeltējušas vai nobrūnējušas auzu lapas vai to gali dīgstu fāzē bieži vien ir *Fusarium* spp. ierosinātas infekcijas rezultāts (16.attēls).



16.attēls. Nobrūnējušas dīgsta lapas, no kurām izolēts *F. oxysporum*.

Dažādas *Fusarium* sugas visbiežāk izolētas no pilnīgi vai daļēji nomelnējušiem vai pelēkiem graudiem (17.attēls), savukārt uz stiebiem un sakņu kakla konstatēti dažādi slimību simptomi, no kuriem izolētas dažādas *Fusarium* sugas: tumši izplūduši vai garenī plankumi uz stiebra lejasdaļas vai sakņu kakla un, bojājuma rezultātā, nobrūnējis, zaudējis dabisko krāsojumu vai atmiris sakņu kals vai stiebrs (18.attēls).



17.attēls. Grauds ar slimības simptomiem, no kura izolēts *F. sporotrichoides*.



18.attēls. Bojājums uz sakņu kakla, no kura izolēts *F. graminearum*.

No auzu skarām iegūti un identificēti pavisam 288 *Fusarium* izolāti. Pēc morfoloģiskajām pazīmēm noteiktas 12 sugas. Starp tām pārliecinoši dominējošā (vairāk nekā pusē no kopējā izolātu skaita) ir *F. poae*, kas ir nozīmīga toksīnu veidojoša suga. Līdzīgi kā gadījumā ar dīgstiem, izolātu sugu procentuālais sadalījums būtiski atšķiras ( $p=0.000003015$ ) atkarībā no skaras daļas, no kuriem tie izdalīti (Tabula 5).

Tabula 5. *Fusarium* sugu daudzveidība auzu skarās

Identificētā <i>Fusarium</i> suga*	Izolātu skaits	Izolāti no visiem, %	Skaras daļa, no kuras izolēts, %		
			grauds	plēksne	stiebrs
<i>F. acuminatum</i>	2	0,7	100,0	0,0	0,0
<i>F. armeniacum</i>	21	7,2	76,2	19,1	4,8
<i>F. avenaceum</i>	16	5,5	50,0	50,0	0,0
<i>F. beomiforme</i>	11	3,8	81,8	18,2	0,0
<i>F. compactum</i>	1	0,3	0,0	100,0	0,0
<i>F. culmorum</i>	7	2,4	42,9	57,1	0,0
<i>F. equiseti</i>	1	0,3	100,0	0,0	0,0
<i>F. graminearum</i>	34	11,7	75,5	23,5	2,9
<i>F. oxysporum</i>	2	0,7	50,0	0,0	50,0
<i>F. poae</i>	152	52,4	82,9	17,1	0,0
<i>F. sporotrichoides</i>	37	12,8	75,7	21,6	2,7
<i>F. tricinctum</i>	6	2,1	66,7	33,3	0,0

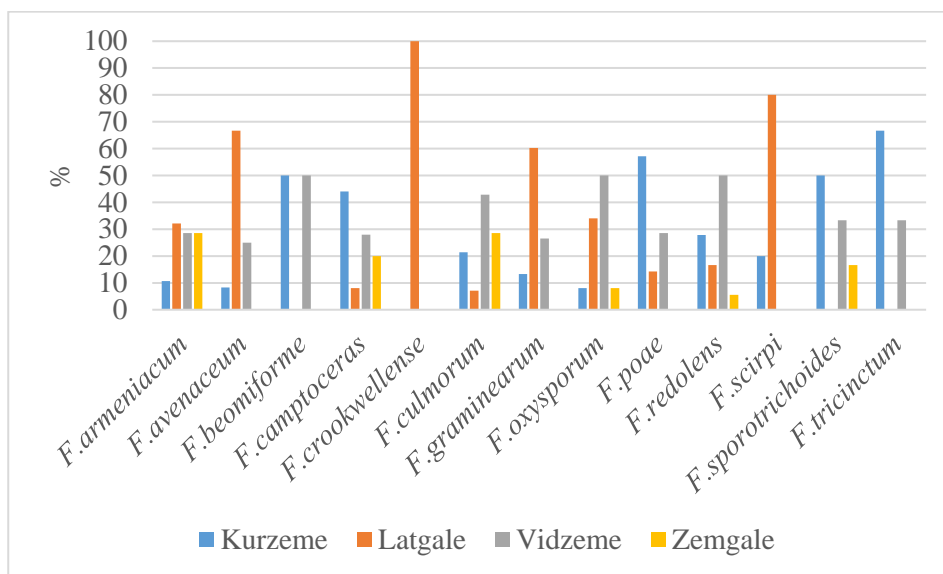
\* Indikatīvi noteikta pēc morfoloģiskām pazīmēm

Biežāk sastopamie slimības simptomi, kas konstatēti uz auzu skarām, ir tumši grauda gali, melni, pelēki graudi, retāk ūdeņaini nedaudz oranži plankumi uz grauda, pelēcīgi, brūngani svītrveida plankumi uz plēksnēm (19.attēls).

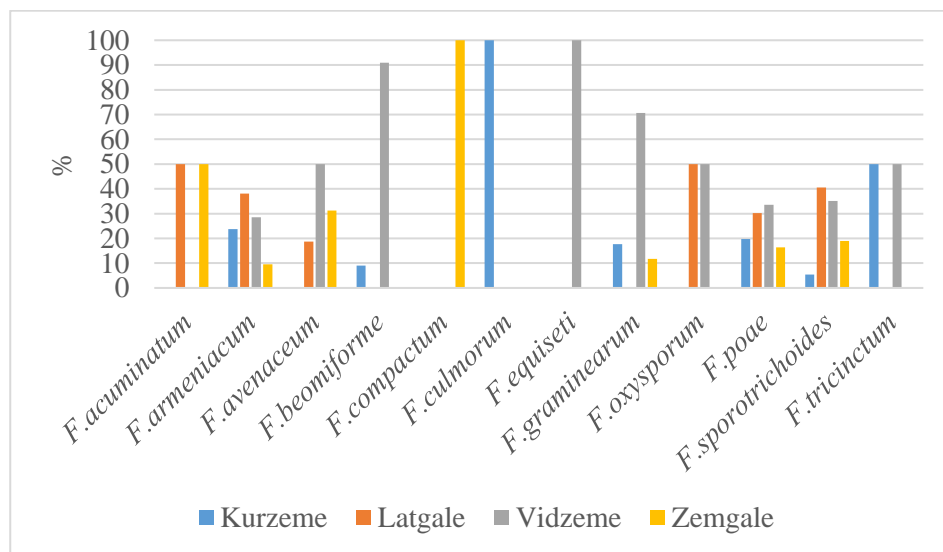


19.attēls. Slimības simptomi uz graudiem, no kuriem iegūti *Fusarium* izolāti.

Identificēto *Fusarium* sugu daudzveidība gan auzu dīgstos, gan skarās bija būtiski ( $p=0.00000001295$ ) atkarīga no Latvijas reģiona (20., 21.attēls). Tas varētu būt skaidrojams ar vairākiem faktoriem, kas varētu atšķirties Latvijas reģionos, piemēram, augsnes, klimatiskie apstākļi, saimniekošanas intensitāte, veģetācijas perioda garums. Katrs no šiem faktoriem varētu ietekmēt *Fusarium* ierosinātu infekciju attīstību, tādēļ turpmāk būtu nepieciešams pētīt atsevišķu faktoru ietekmi uz konkrētām sēņu sugām un *Fusarium* sastopamību kopumā.



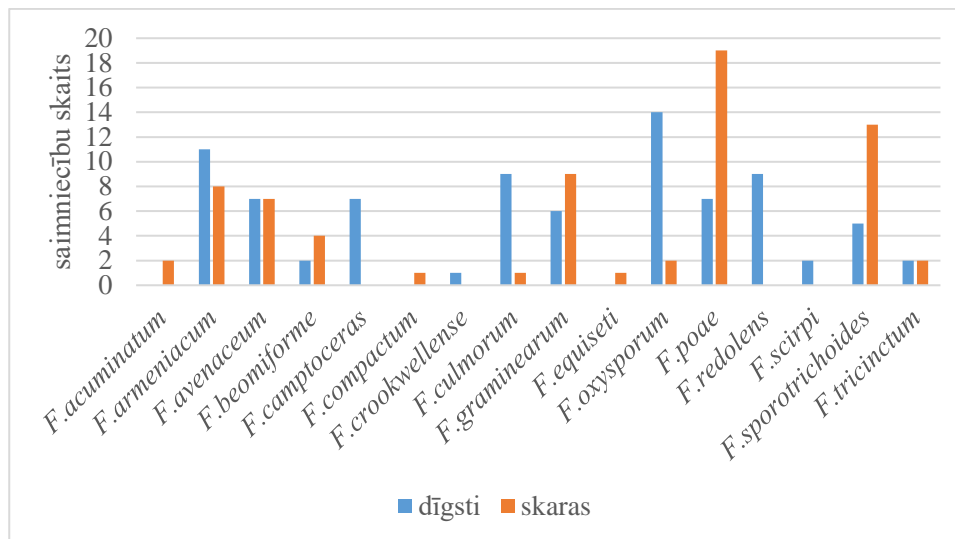
20.attēls. *Fusarium* sugu proporcionālais sadalījums auzu dīgstos dažādos Latvijas reģionos.



21.attēls. *Fusarium* spp. proporcionālais sadalījums auzu skarās dažādos Latvijas reģionos.

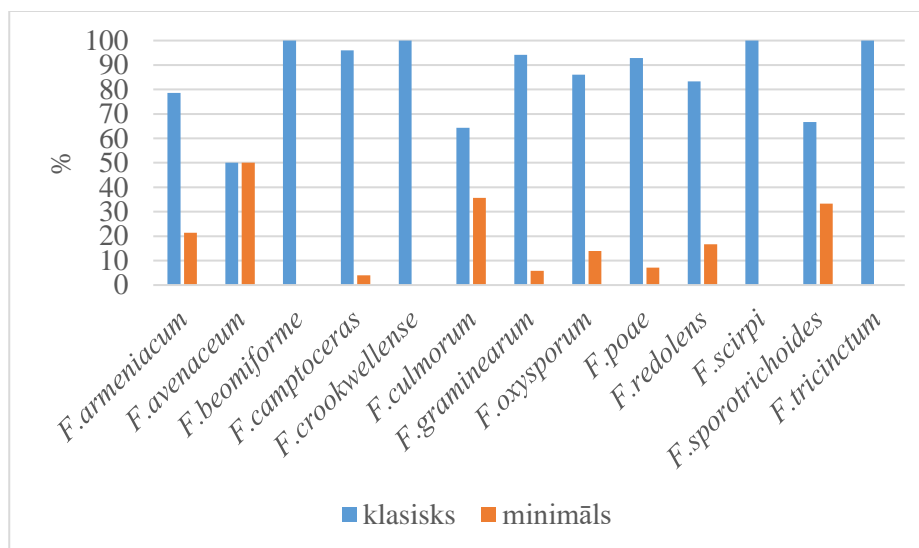


Identificēto sugu sastāvs un sastopamības biežums uz auzu dīgstiem un skarām bija būtiski atšķirīgs arī starp saimniecībām, kurās auzu paraugi tika ievākti (22.attēls). Piemēram, bija saimniecība, no kuras ievāktajos dīgstu paraugos nekonstatēja *Fusarium*, bet uz skarām tikai vienu no deviņām izolētajām sugām. Savukārt dažu saimniecību laukos ievāktajos skaru paraugos konstatēja lielu *Fusarium* sugu daudzveidību - astoņas no pavisam izolētajām deviņām sugām.



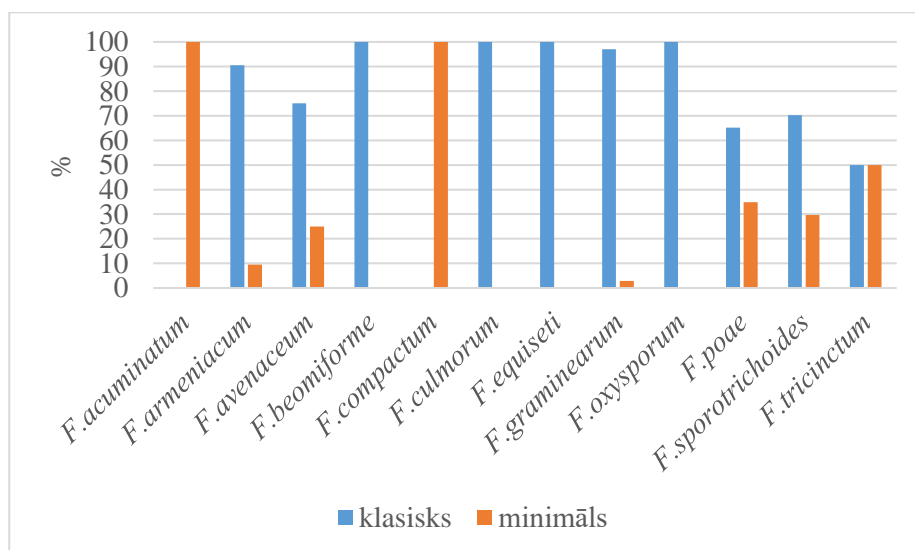
22.attēls. Saimniecību skaits (no 21), no kurām ievāktajos dīgstu un skaru paraugos, izolētas dažādas *Fusarium* sugas.

Salīdzinot augsnes apstrādes veidus – klasisko un minimālo – varēja saskatīt būtiskas *Fusarium* sugu daudzveidības atšķirības gan uz dīgstiem, gan skarām (23.attēls). Laukos ar klasisko augsnes apstrādi vairumā gadījumu konstatēja lielāku *Fusarium* sugu daudzveidību un sastopamības biežumu auzu dīgstos, salīdzinājumā ar augsnes minimālo apstrādi. Šos rezultātus varēja ietekmēt fakts, ka vairums saimniecību, kurās ievākti auzu paraugi, augsnes apstrādi veic klasiski, bet minimālā augsnes apstrāde veikta tikai sešās no divdesmit vienas saimniecības. Turklāt ir izpētīts, ka minimālā augsnes apstrāde, it īpaši bezaršanas tehnoloģijas neizjauc augsnes mikrobioloģisko līdzsvaru. Savukārt, apvēršot augsnes virskārtu, līdzsvars tiek izjaukts un var intensīvāk vairoties patogēni, kas tiek ienesti augsnē ar nekodinātu vai ar *Fusarium* inficētu sēklas materiālu, tā izskaidrojot *Fusarium* sugu daudzveidību auzu laukos ar klasisko augsnes apstrādi. Ir izpētīts, ka minimālajā augšņu apstrādē mitruma saturs aramkārtā ir izlīdzinātāks, tas var labvēlīgi ietekmēt straujāku un spēcīgāku augu attīstību, tādējādi palielinot to izturību pret inficēšanos ar augsnē mītošām *Fusarium* sugu sēnēm.



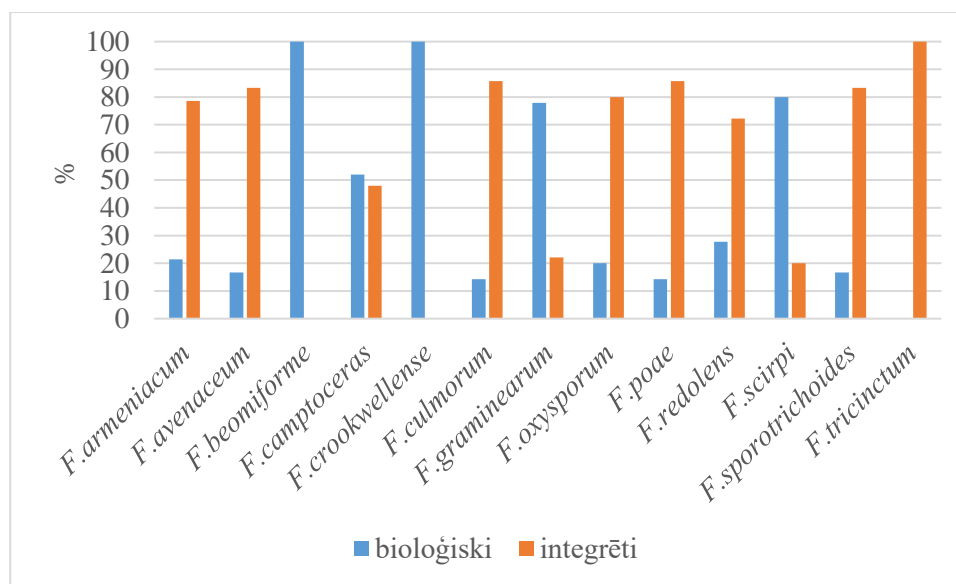
23.attēls. *Fusarium* spp. proporcionālais sadalījums auzu dīgstos atkarībā no augsnes apstrādes veida.

No skaru paraugiem, kas ievākti saimniecībās ar klasisku augsnes apstrādi, iegūta lielāka *Fusarium* sugu daudzveidība, salīdzinājumā ar saimniecībām, kurās veic minimālu augsnes apstrādi (24.attēls). Zinot to, ka *Fusarium* sugu attīstību galvenais ietekmējošais faktors veģetācijas perioda otrajā pusē ir meteoroloģiskie apstākļi, var secināt, ka augsnes apstrādes veida ietekme uz *Fusarium* sugu sastopamību un daudzveidību auzu skarās varētu būt minimāla. Tādēļ šī faktora ietekmes izskaidrošana uz *Fusarium* sugu sastopamību un daudzveidību auzu skarās, neļauj izdarīt korektus secinājumus.



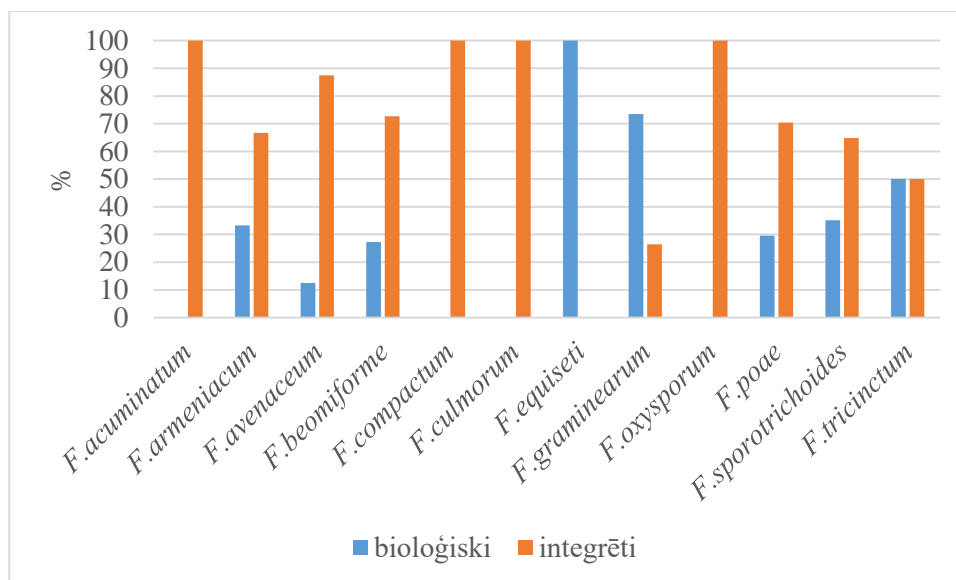
24.attēls. *Fusarium* spp. proporcionālais sadalījums auzu skarās atkarībā no augsnes apstrādes veida.

Pētījumā noskaidrots, ka saimniekošanas veids ir būtisks *Fusarium* sugu sastopamību ietekmējošs faktors. *Fusarium* sugu daudzveidība un sastopamības biežums vairumā gadījumu uz auzu dīgstiem bija lielāks tieši saimniecībās ar integrētu saimniekošanas veidu, izņemot gadījumu, kad *F. graminearum*, *F. scirpi* un *F. camptoceras* biežāk bija sastopams bioloģiskas saimniekošanas laukos (25.attēls). Ņemot vērā to, ka *Fusarium* ģints sēnes saglabājas augsnē, var daļēji izskaidrot iegūtos rezultātus ar to, ka bioloģiskas saimniekošanas laukos augsnes mikroorganismu aktivitāte varētu būt lielāka salīdzinājumā ar integrētas saimniekošanas lauku augsni. Tas varētu ietekmēt arī *Fusarium* ģints sēņu populācijas attīstību.



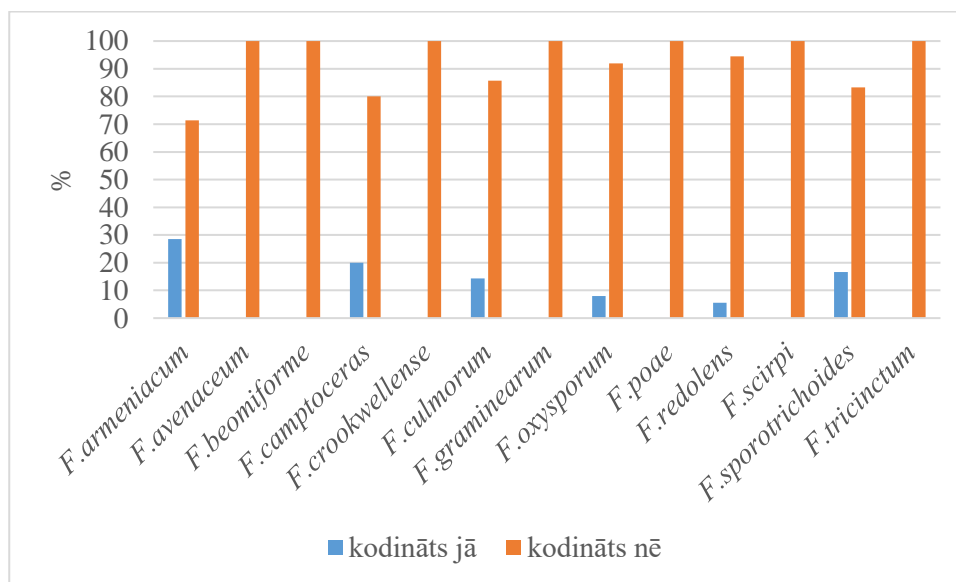
25.attēls. *Fusarium* spp. proporcionālais sadalījums auzu dīgstos atkarībā no saimniekošanas veida.

*Fusarium* sugu daudzveidība un sastopamības biežums arī auzu skarās būtiski atšķīrās ( $p=0.0001043$ ) integrētas un bioloģiskas saimniekošanas laukos (26.attēls). *F. graminearum* auzu skarās, tāpat kā dīgstos, dominēja bioloģiskas saimniekošanas laukos. Savukārt *F. scirpi* un *F. camptoceras* uz skarām netika atrasts nevienā no saimniekošanas veidiem, lai gan dīgstu fāzē bija sastopami. Vairumā gadījumu pārējās *Fusarium* sugas atkal dominēja integrētas saimniekošanas auzu sējumos. Ņemot vērā iegūtos rezultātus, var secināt, ka tādu nozīmīgu toksīnus veidojošu sugu *F. graminearum*, *F. poae*, *F. sporotrichoides* un *F. avenaceum* klātbūtne auzu dīgstu fāzē var ietekmēt auzu inficēšanos vēlāk veģetācijas periodā un nokļūšanu graudos.

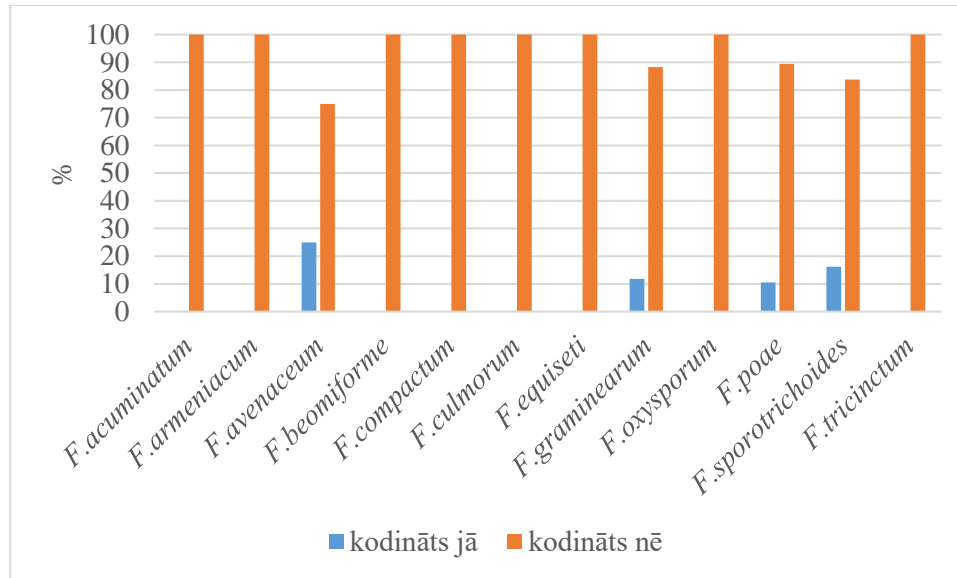


26.attēls. *Fusarium* spp. proporcionālais sadalījums auzu skarās atkarībā no saimniekošanas veida.

Pētījuma rezultāti pārliecinoši pierādīja, ka sēklas kodināšana ir nozīmīgs *Fusarium* sugu daudzveidību un sastopamības biežumu ietekmējošs faktors auzu dīgstos, kā redzams 27.attēlā un ietekmē turpmāko *Fusarium* spp. attīstību līdz pat auzu gatavības fāzei (28.attēls).

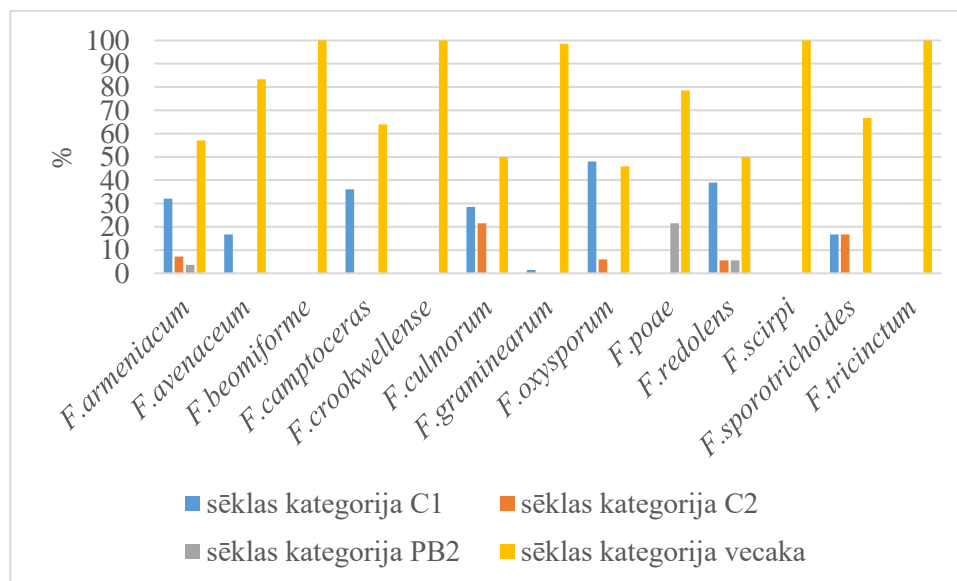


27.attēls. *Fusarium* spp. proporcionālais sadalījums auzu dīgstos atkarībā no sēklas kodināšanas.

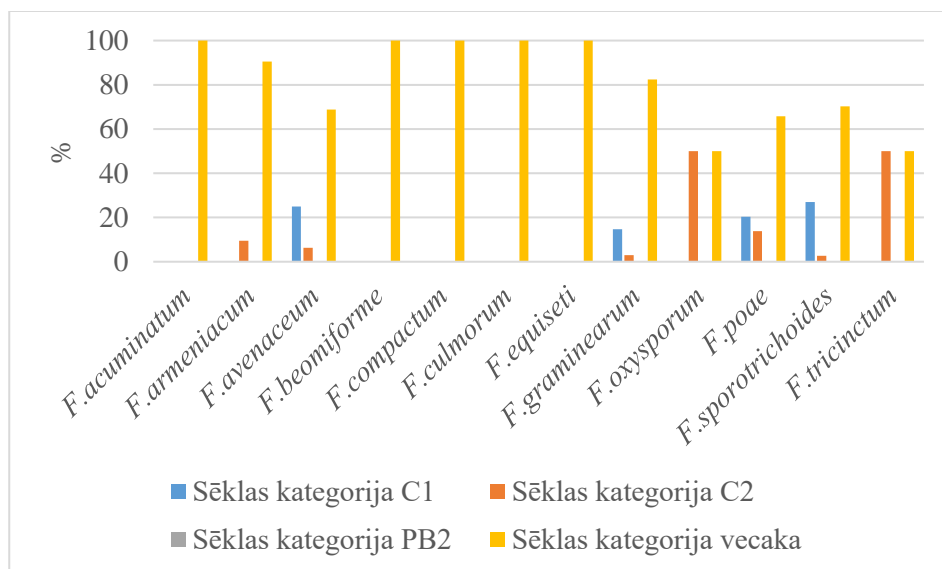


28.attēls. *Fusarium* spp. proporcionālais sadalījums auzu skarās atkarībā no sēklas kodināšanas.

Pētījuma rezultāti apstiprināja iepriekš izvirzīto hipotēzi, ka sēklas materiāla kategorija varētu būtiski ( $p=00000001118$ ) ietekmēt *Fusarium* sugu sastopamības biežumu un bioloģisko daudzveidību dīgstos (29.attēls) jo kā zināms no literatūras studijām, *Fusarium* ģints sēnes saglabājas arī graudos. Sēklas materiāls, kā redzams 30.attēlā, ietekmē *Fusarium* attīstību un sastopamību līdz pat ražas novākšanai.

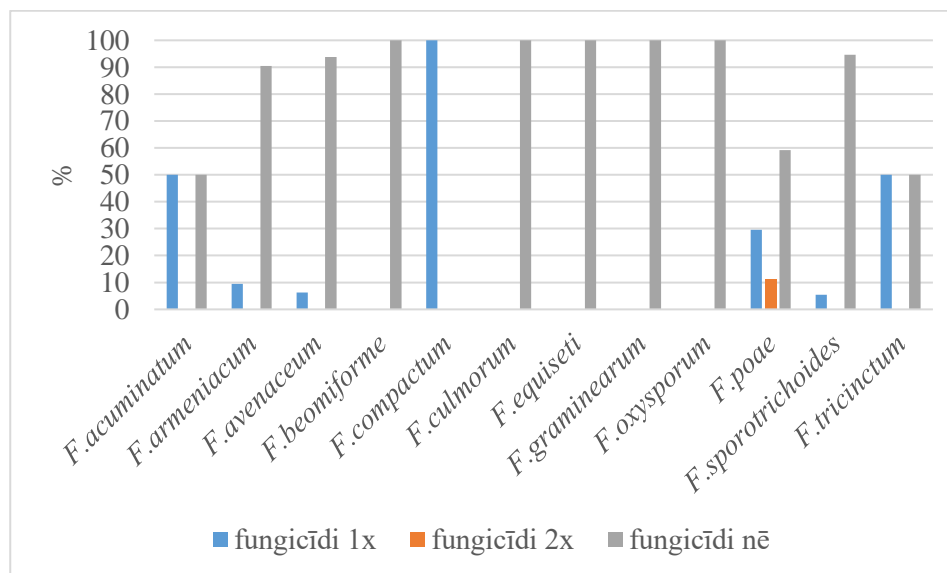


29.attēls. *Fusarium* spp. proporcionālais sadalījums auzu dīgstos atkarībā no sēklas kategorijas.



30.attēls. *Fusarium* spp. proporcionālais sadalījums auzu skarās atkarībā no sēklas kategorijas.

Pētījumā konstatēts, ka fungicīdu lietošana auzu sējumos vienu reizi sezonā, vairumā gadījumu būtiski samazina *Fusarium* sugu klātbūtni auzu ražā (31.attēls).



31.attēls. *Fusarium* spp. proporcionālais sadalījums auzu skarās atkarībā no fungicīdu lietošanas veģetācijas periodā.

Kā noskaidrojās, gan sēklas kodināšana, gan fungicīdu izmantošana ir nozīmīgi pasākumi *Fusarium* sugu sastopamības samazināšanā auzu sējumos. It īpaši svarīgi tas būtu sēklaudzēšanas saimniecībām, lai novērstu un samazinātu iespēju *Fusarium* un citu patogēnu izplatībai ar sēklas materiālu. Šos pasākumus var izmantot auzu audzētāji, kas strādā integrēti. Diemžēl bioloģiskajām saimniecībām šādas iespējas nav, vai tās ir ierobežotas. Tādēļ turpmāk būtu jāmeklē alternatīvas iespējas augu aizsardzības pasākumu veikšanai auzu sējumos bioloģiskas audzēšanas sistēmās.

## Secinājumi

1. Auzu dīgstos dominēja *Fusarium graminearum*, *F.oxysporum*, *F.camptoceras* un *F.armeniicum*, savukārt no auzu skarām visbiežāk izolēts *F.poa*.
2. *Fusarium* sugu daudzveidība un sastopamības biežums bija būtiski atšķirīgs dažādos Latvijas reģionos, dažādās auzu audzēšanas saimniecībās un saimniekošanas sistēmās.
3. Sēklas materiāla kategorija, kodināšana, fungicīdu lietošana veģetācijas periodā un augsnes apstrādes veids ir nozīmīgi *Fusarium* sugu daudzveidību un sastopamības biežumu ietekmējoši faktori.
4. Pētījuma rezultāti ir praktiski izmantojami turpmāko pētījumu uzdevumu izvirzīšanai, *Fusarium* ierobežošanas stratēģijas plānošanai un praktisku ieteikumu sagatavošanai auzu audzētājiem.

# 1. pielikums

Datums	Šķirne	Izolāts	Augu skaits	Lapas nr.	pazīmju novērtējuma skala, 0-nav pazīmju, 9-stipri inficēts										Nav inficēts	Uzskaites veicējs	Piezīmes	
					0	1	2	3	4	5	6	7	8	9				
	Fredis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		1														
	Fredis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		2														
	Fredis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		1														
	Fredis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		2														
	Edvins	Pst ww 19-46/IHAR/2020		1														
	Edvins	Pst ww 19-46/IHAR/2020		2														
	Edvins	Pst ww 19-46/IHAR/2020		1														
	Edvins	Pst ww 19-46/IHAR/2020		2														
	Talsis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		1														
	Talsis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		2														
	Talsis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		1														
	Talsis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		2														
	Reinis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		1														
	Reinis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		2														
	Reinis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		1														
	Reinis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		2														
	Brencis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		1														
	Brencis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		2														
	Brencis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		1														
	Brencis	Pst ww 19-46/IHAR/2020		2														
	Skagen	Pst ww 19-46/IHAR/2020		1														
	Skagen	Pst ww 19-46/IHAR/2020		2														
	Skagen	Pst ww 19-46/IHAR/2020		1														
	Skagen	Pst ww 19-46/IHAR/2020		2														



## 2. pielikums

**Table 3.** Correspondence between genetic lineages and prevalent races in *P. striiformis* tested at the Global Rust Reference Center 2008-2019. Definitions, [click here](#)

Common names for prevalent races and genetic groups in yellow rust - GRRC, February 2019			
Genetic group	Race	Virulence phenotype*	Prevalence in geographical region
PstS0	<i>Brigadier</i>	1,2,3,-,-,-,-,-,9,-,-,17,-,25,-,-,-,AvS,-	Europe
	<i>Brigadier,v4</i>	1,2,3,4,-,-,-,-,9,-,-,17,-,25,-,-,-,AvS,-	Europe
	<i>Madrigal_Lymx</i>	1,2,3,-,-,6,-,-,9,-,-,17,-,25,-,-,-,AvS,-	Europe
	<i>Madrigal_Lymx,v4</i>	1,2,3,4,-,-,6,-,-,9,-,-,17,-,25,-,-,-,AvS,-	Europe
	<i>Robigus</i>	1,2,3,4,-,-,-,-,9,-,-,17,-,25,-,-,32,-,AvS,-	Europe
	<i>Robigus,v7</i>	1,2,3,4,-,-,7,-,9,-,-,17,-,25,-,-,32,-,AvS,-	Europe
	<i>Solstice_Oakley</i>	1,2,3,4,-,-,6,-,-,9,-,-,17,-,25,-,-,32,-,AvS,-	Europe
	<i>Solstice_Oakley,v7</i>	1,2,3,4,-,-,6,7,-,9,-,-,17,-,25,-,-,32,-,AvS,-	Europe
	<i>Tulsa</i>	-,-,3,4,-,-,6,-,-,-,-,-,-,25,-,-,32,-,AvS,-	Europe
	<i>other</i>	<i>other</i>	Europe, South America
PstS1	<i>FstS1</i>	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,-,25,-,-,-,AvS,-	North America, Australia
	<i>FstS1,v17</i>	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,-,17,-,25,-,-,-,AvS,-	North America
	<i>FstS1,v10,v24,v27</i>	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,10,-,-,-,-,24,25,27,-,-,AvS,-	East Africa
	<i>other</i>	<i>other</i>	North America
PstS2	<i>FstS2</i>	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,-,25,-,-,-,AvS,-	East Africa, West Asia, South Asia
	<i>FstS2,v1</i>	1,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,-,25,-,-,-,AvS,-	East Africa, West Asia
	<i>FstS2,v3</i>	-,-,2,3,-,-,6,7,8,9,-,-,-,-,25,-,-,-,AvS,-	East Africa
	<i>FstS2,v2/</i>	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,-,25,27,-,-,AvS,-	East Africa, West Asia, North Africa
	<i>Fst2,v1,v?7</i>	1,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,-,25,27,-,-,AvS,-	East Africa, West Asia
	<i>FstS2,v3,v27</i>	-,-,2,3,-,-,6,7,8,9,-,-,-,-,25,27,-,-,AvS,-	East Africa
	<i>FstS2,v10,v24</i>	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,10,-,-,-,-,24,25,-,-,-,AvS,-	East Africa, West Asia
	<i>FstS2,v3,v10,v24,v27</i>	-,-,2,3,-,-,6,7,8,9,10,-,-,-,-,24,25,27,-,-,AvS,-	East Africa
	<i>FstS2,v10,v24,v27</i>	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,10,-,-,-,-,24,25,27,-,-,AvS,-	West Asia
	<i>Other</i>	<i>other</i>	East Africa & West Asia
PstS3	<i>FstS3</i>	-,-,-,-,-,6,7,8,-,-,-,-,-,-,-,AvS,-	North Africa, West Asia
	<i>FstS3,v10,v24</i>	-,-,-,-,-,6,7,8,-,-,10,-,-,-,24,-,-,-,-,AvS,-	West Asia
	<i>FstS3(-)</i>	-,-,-,-,-,6,7,8,-,-,-,-,-,-,-,-,-	Europe, South Asia
PstS4	<i>Triticale2006</i>	-,-,2,-,-,-,6,7,8,-,-,10,-,-,-,24,-,-,-,-,-	Europe
	<i>Other</i>	<i>other</i>	Europe
PstS5	<i>FstS5</i>	1,2,3,4,-,-,6,-,-,9,-,-,-,-,25,-,-,32,-,-,AvS,Amb	Central Asia
	<i>FstS5,v17</i>	1,2,3,4,-,-,6,-,-,9,-,-,17,-,-,25,-,-,32,-,-,AvS,Amb	Central Asia, South Asia
	<i>Other</i>	<i>other</i>	Central Asia, South Asia
PstS6	<i>FstS6</i>	1,2,-,-,-,6,7,-,9,-,-,-,17,-,-,27,-,-,-,AvS,-	East Africa, Central Asia, South Asia
PstS7	<i>Warrior</i>	1,2,3,4,-,-,6,7,-,9,-,-,-,17,-,-,25,-,-,32,-,Sp,AvS,Amb	Europe
PstS8	<i>Kvanich</i>	1,2,3,-,-,6,7,8,9,-,-,-,-,17,-,-,25,-,-,32,-,AvS,Amb	Europe
PstS9	<i>FstS9</i>	1,2,3,4,-,-,6,-,-,9,-,-,-,-,25,27,32,-,-,AvS,Amb	Central Asia, South Asia
	<i>FstS9,v17</i>	1,2,3,4,-,-,6,-,-,9,-,-,-,-,17,-,-,25,27,32,-,-,AvS,Amb	Central Asia
	<i>Other</i>	<i>other</i>	Central Asia
PstS10	<i>Warrior(-)</i>	1,2,3,4,-,-,6,7,-,9,-,-,-,17,-,-,25,-,-,32,-,Sp,AvS,-	Europe, North Africa
PstS11	<i>FstS11</i>	-,-,2,-,(4),-,-,6,7,8,-,-,-,-,17,-,-,27,32,-,AvS,-	Central Asia, East Africa
PstS12	<i>Hereford</i>	-,-,2,3,-,-,6,7,8,-,-,-,-,17,-,-,25,-,-,32,-,AvS,-	Europe
PstS13	<i>Triticale2015</i>	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,-,-,-,-,AvS,-	Europe, South America
PstS14	<i>FstS14</i>	-,-,2,3,-,-,6,7,8,9,-,-,-,-,17,-,-,25,-,-,32,-,(Sp),AvS,-	Europe, North Africa

\* Figures and symbols designate virulence and avirulence (-) corresponding to yellow rust resistance genes: Yr1, Yr2, Yr3, Yr4, Yr5, Yr6, Yr7, Yr8, Yr9, Yr10, Yr15, Yr17, Yr24, Yr25, Yr27, Yr32, and the resistance specificity of Spalding Prolific (Sp), Avocet S (AvS) and Ambition (Amb), respectively.









## 7. pielikums

Kviešu diferenciatoršķirņu novērtējuma tabula pēc inficēšanas ar izolātu Pst9.

Šķirne	Rezistences gēni	augu skaits podiņā	lapas nr.	pazīmju novērtējuma skala, 0-nav pazīmju, 9-stipri inficēts																
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9							
				Chinese 166	Yr1	6	1	5	1											
Chinese 166	Yr1	6	2	5	1															
Kalyansona	Yr2, +	5	1								5									
Kalyansona	Yr2, +	5	2								3	1								
Vilmorin 23	Yr3, +	6	1				1	1	1											
Vilmorin 23	Yr3, +	6	2					5												
Hybrid 46	Yr4, +	6	1					4												
Hybrid 46	Yr4, +	6	2					3												
Heines Kolben	Yr2, Yr25, +	6	1				2	2	2											
Heines Kolben	Yr2, Yr25, +	6	2					6												
Avocet Yr6	Yr6, AvS	5	1																	4
Avocet Yr6	Yr6, AvS	5	2																	4
Lee	Yr7, +	6	1																	6
Lee	Yr7, +	6	2																	6
Avocet Yr8	Yr8	5	1																	5
Avocet Yr8	Yr8	5	2																	3
Avocet Yr9	Yr9, AvS	6	1	5		1														
Avocet Yr9	Yr9, AvS	6	2	5		1														
Moro	Yr10	6	1				1				1	2								
Moro	Yr10	6	2				2	3												
Cortez	Yr15	6	1	6																
Cortez	Yr15	6	2	6																
VPM1	Yr17, +	6	1	6																
VPM1	Yr17, +	6	2	6																
Avocet Yr17	Yr17, AvS, +	6	1																	5
Avocet Yr17	Yr17, AvS, +	6	2																	4
TP 981	Yr25, +	6	1								2	4								
TP 981	Yr25, +	6	2									4								
Opata	Yr18, Yr27, +	6	1				3		3											
Opata	Yr18, Yr27, +	6	2				2													
Carstens V	Yr25, Yr32, +	5	1							5										
Carstens V	Yr25, Yr32, +	5	2							2										
Avocet YrSp	Yr1, Yr18, AvS	5	1																	5
Avocet YrSp	Yr1, Yr18, AvS	5	2																	5
Avocet S	YrS	6	1																	6
Avocet S	YrS	6	2																	6
Ambition	Amb	6	1																	6
Ambition	Amb	6	2																	2
Cartago	nav	6	1																	6
Cartago	nav	6	2																	2