



BAIBA LĀCE

**AGROEKOLOGISKO FAKTORU IETEKME UZ  
BUMBIERU – KADIĶU RŪSU (IER.  
*GYMNOSPORANGIUM SABINAE* (DICKS.) G.  
WINTER) UN INTEGRĒTĀS AUGU AIZSARDZĪBAS  
IESPĒJAS SLIMĪBAS IEROBEŽOŠANĀ**

**IMPACT OF AGRO-ECOLOGICAL FACTORS ON  
DEVELOPMENT OF EUROPEAN PEAR RUST  
CAUSED BY *GYMNOSPORANGIUM SABINAE*  
(DICKS.) G. WINTER AND INTEGRATED PEST  
MANAGEMENT POSSIBILITIES FOR ITS CONTROL**

Promocijas darba KOPSAVILKUMS  
Dr. agr. zinātniskā grāda iegūšanai

**SUMMARY**  
of the Doctoral thesis for the scientific degree Dr. agr.

**Latvijas Lauksaimniecības universitāte**  
**Lauksaimniecības fakultāte**

*Latvia University of Agriculture*  
*Faculty of Agriculture*

B A I B A L Ā C E

**AGROEKOLOGISKO FAKTORU IEITEKME UZ  
BUMBIERU – KADIĶU RŪSU  
(IER. *GYMNOSPORANGIUM SABINAE* (DICKS.) G. WINTER)  
UN INTEGRĒTĀS AUGU AIZSARDZĪBAS IESPĒJAS SLIMĪBAS  
IEROBEŽOŠANĀ**

IMPACT OF AGRO-ECOLOGICAL FACTORS ON DEVELOPMENT OF  
EUROPEAN PEAR RUST  
CAUSED BY *GYMNOSPORANGIUM SABINAE* (DICKS.) G. WINTER AND  
INTEGRATED PEST MANAGEMENT POSSIBILITIES FOR ITS CONTROL

Promocijas darba **KOPSAVILKUMS**  
Dr. agr. zinātniskā grāda iegūšanai

**SUMMARY**  
*of the Doctoral thesis for the scientific degree Dr. agr.*

Paraksts / signature

Jelgava, 2016

Darba zinātniskais vadītājs / *scientific supervisor:*

Prof. Dr. biol. B. Bankina

Darba zinātniskā konsultante / *scientific consultant:*

Ph. D. I. Moročko-Bičevska

Darba recenzenti / *reviewers:*

Prof. Dr. habil. agr. Ināra Turka

Dr. biol. Dainis Runģis

Dr. biol. Laila Ikase

**Promocijas darba aizstāvēšana** paredzēta Latvijas Lauksaimniecības universitātes Lauksaimniecības nozares Laukkopības apakšnozares promocijas padomes atklātajā sēdē 2016. gada 29. decembrī plkst. 10:00, Latvijas Lauksaimniecības universitātē, 123. auditorijā, Lielā iela 2, Jelgava

*The defence of thesis will be held in an open session of the Promotion Board of the Agriculture on December 29, 2016 at 10:00 in room 123, Latvia University of Agriculture, Lielā iela 2, Jelgava*

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties Latvijas Lauksaimniecības universitātes Fundamentālajā bibliotēkā, Lielā iela 2, Jelgava

*The thesis and resume are available at the Fundamental Library of Latvia University of Agriculture, Lielā iela 2, Jelgava*

**Atsauksmes lūdzu sūtīt** Lauksaimniecības nozares Laukkopības apakšnozares promocijas padomes sekretārei Dr. agr. Maija Ausmanei, Lielā iela 2, Jelgava, LV-3001; fakss +371 63027238, tālr. +371 63005632.

**References are welcome to be sent to Dr. agr. Maija Ausmane, the Secretary of the Promotion Board, Latvia University of Agriculture, Lielā iela 2, Jelgava, LV-3001; fax +371 63027238, tel. +371 63005632.**

ISBN 978-9984-48-242-2 (print)

ISBN 978-9984-48-243-9 (online)

## SATURS / CONTENT

|   |    |
|---|----|
| <b>Ievads .....</b>   | 4  |
| <b>Pētījumu apstākļi un metodika .....</b>  | 7  |
| <b>Rezultāti.....</b>   | 11 |
| Latvijā sastopamo <i>Gymnosporangium</i> sugu noteikšana uz kadiķiem un bumbierēm .....                   | 11 |
| <i>Gymnosporangium</i> sugu izplatība Latvijā .....   | 13 |
| Bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja attīstības cikla īpatnības .....                                     | 15 |
| Bumbieru genotipu ieņēmības vai izturības pret bumbieru – kadiķu rūsu izvērtējums.....                    | 19 |
| Bumbieru – kadiķu rūsas simptomi atkarībā no bumbieru genotipiem .....                                    | 21 |
| Agroekoloģisko faktoru ietekme uz bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpi un izplatību.....             | 22 |
| Bumbieru – kadiķu rūsas ierobežošanas iespējas pamatojoties uz patogēna attīstības ciklu .....            | 24 |
| <b>Secinājumi .....</b>   | 26 |
| <b>Zinātniskā darba aprobācija .....</b>  | 27 |
| <br><i>Approbation of the scientific paper .....</i>  | 27 |
| <i>Introduction .....</i>   | 30 |
| <i>Materials and methods .....</i>  | 32 |
| <i>Results .....</i>  | 35 |
| <i>Identification of <i>Gymnosporangium</i> species occurring in Latvia on junipers and pears .....</i>   | 35 |
| <i>Distribution of <i>Gymnosporangium</i> species in Latvia .....</i>                                     | 37 |
| <i>Peculiarities of European pear rust agent development cycle.....</i>                                   | 38 |
| <i>The evaluation of pear genotype susceptibility or resistance to European pear rust .....</i>           | 41 |
| <i>The symptoms of European pear rust depending on the pear genotypes .....</i>                           | 42 |
| <i>The impact of agro-ecological factors on the severity and distribution of European pear rust .....</i> | 42 |
| <i>European pear rust control possibilities based on the pathogen development cycle.....</i>              | 44 |
| <b><i>Conclusions .....</i></b>   | 46 |

## IEVADS

Bumbieres (*Pyrus communis* L.) ir otrs izplatītākais sēkleņkoku kultūraugs Latvijas dārzos, kopējā stādījumu platība ir ap 200 ha. Bumbieru ražu un tās kvalitāti ietekmē vairākas nozīmīgas slimības. Komerciālajos stādījumos pasaulei pielieto augu aizsardzības sistēmu, kas nodrošina šo slimību ierobežošanu. Taču mazdārzos, kā arī bioloģiskajos dārzos, kur augu aizsardzības līdzekļus nelieto vai lieto ļoti maz, arvien biežāk sastopama bumbieru – kadiķu rūsa, kuru ierosina divmāju patogēns ar nepilno attīstības ciklu *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter. Patogēna attīstībai nepieciešama gan bumbiere, gan kadiķis. Latvijā lielu popularitāti ieguvušie dažādu sugu kadiķi ir veicinājuši šīs slimības izplatīšanos augļu dārzos. Diemžēl pēdējos gados slimība sastopama arī atsevišķos komercstādījumos, kuros sēnu slimību ierobežošanai paredzētie smidzinājumi nav bijuši pietiekami efektīvi bumbieru – kadiķu rūsas ierobežošanai.

Zinātniskajā literatūrā atrodama informācija par bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja attīstību uz lapām, taču novērots, ka patogēns inficē arī augļus un dzinumus. Bieži sastopamas publikācijas par teleito stadijas optimālajiem apstākļiem *in vitro*, taču nav ziņots par ecīdijstadijas attīstības īpatnībām. Uzskata, ka *Gymnosporangium sabinae* nespēj saglabāties inficētos dzinumos, tomēr ir viens pētījums, kur ecīdijas novērotas arī nākamajā gadā (Hunt, O'Reilly, 1978). Latvijā pastāv viedoklis, kas bieži vien ir minēts populārzinātniskajā literatūrā, ka infekcijas avots var būt inficēti dzinumi, tādēļ bija nepieciešams zinātniski pierādīt patogēna zimošanas iespējas. Katra attīstības stadija ir nozīmīga patogēna dzīves ciklā, un katras stadijas attīstībai nepieciešami konkrēti apstākļi. Padziļināti, sistemātiski un ilggadīgi pētījumi par bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja attīstības īpatnībām pasaulei līdz šim nav veikti. Zināms, ka Eiropā sastopamas deviņas *Gymnosporangium* sugars, tomēr līdz šim nebija zināms, kādas sugars sastopamas Latvijā, un kuras sastopamas uz bumbierēm. Bumbieru – kadiķu rūsas ierobežošanai nepieciešama sava pieejā integrētās augu aizsardzības sistēmā. Jāatzīmē, ka vienīgajā pētījumā par bumbieru – kadiķu rūsas ierobežošanu norādīts, ka efektīva ietekme slimības ierobežošanā ir mankocebam, ja to smidzina uz kadiķa. Zinātniski pētījumi par šīs vielas ietekmi uz slimības attīstības pakāpi, apsmidzinot bumbieres, nav veikti. Taču ārzemju populārzinātniskajā literatūrā norādīta šīs vielas ietekme uz slimības attīstības pakāpes mazināšanos.

Latvijā sistemātiski zinātniski pētījumi par bumbieru – kadiķu rūsas attīstību un izplatību uzsākti 2008. gadā, autores maģistra darba „Bumbieru – kadiķu rūsas (ier. *Gymnosporangium sabinae*) izplatība un ierobežošanas iespējas” ietvaros.

**Pētījumu hipotēze:** Latvijā ir sastopamas vairākas *Gymnosporangium* sugas. Bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja attīstības cikls ir atkarīgs no agroekoloģiskajiem apstākļiem un bumbieru genotipa.

**Pētījumu mērķis** bija noskaidrot agroekoloģisko faktoru ietekmi uz *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter bioloģiju, bumbieru – kadiķu rūsas epidemioloģiju un integrētās augu aizsardzības iespēju pielietojumu patogēna ierobežošanā.

#### **Pētījumu uzdevumi:**

- noteikt Latvijā sastopamās *Gymnosporangium* sugas uz kadiķiem un bumbierēm;
- noskaidrot agroekoloģisko apstākļu ietekmi uz *Gymnosporangium sabinae* attīstības ciklu, izplatību un attīstības pakāpi;
- novērtēt bojājuma pakāpi atkarībā no bumbieru genotipa;
- izstrādāt rekomendācijas bumbieru – kadiķu rūsas ierobežošanai atbilstoši integrētās augu aizsardzības sistēmai.

#### **Pētījuma novitāte:**

- pirmo reizi identificētas *Gymnosporangium* sugas, kuras ierosina bumbieru – kadiķu rūsu un to izplatību Latvijā;
- izpētītas bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja attīstības cikla īpatnības;
- izvērtēta bumbieru – kadiķu rūsas bojājumu pakāpe atkarībā no bumbieru genotipa.

#### **Aizstāvāmās tēzes:**

- Latvijā sastopamas vairākas *Gymnosporangium* sugas;
- bumbieru – kadiķu rūsas attīstības cikls ir atkarīgs no agroekoloģiskajiem apstākļiem un bumbieru genotipa;
- bumbieru – kadiķu rūsas ierobežošanai jābūt balstītai uz patogēna attīstības ciklu konkrētos agroekoloģiskos apstākļos.

**Promocijas darbs** strukturēts trijās nodaļās – Literatūras apskats, Pētījuma apstākļi un metodika, Rezultāti un diskusija. Promocijas darba apjoms 105 lpp. (neskaitot bibliogrāfijas sarakstu un pielikumus); darbā ir 29 tabulas, 69 attēli; 211 bibliogrāfiskie avoti, kā arī 44 pielikumi Darbam formulēti 8 secinājumi.

**Darba praktiskā nozīme.** Pētījumā iegūtie rezultāti un secinājumi par *Gymnosporangium sabinae* ir izmantojami jaunu šķirņu veidošanā un patogēna ierobežošanā ne tikai Latvijā, bet arī citās Eiropas valstīs.

Pētījumi veikti Dārzkopības institūtā no 2008. līdz 2015. gadam. Augu materiāls ievākts visā Latvijas teritorijā, apskatot 762 kadiķus (*Juniperus communis* un *J. sabina*), kā arī bumbieres (*Pyrus communis*) un pīlādži (*Sorbus*) no 53 vietām Latvijā. Sugu identificēšanai izmantoti 18 paraugi no *J. sabina*, 4 paraugi no *J. communis*, 60 paraugi no *P. communis* un 3 paraugi no *Sorbus*.

**Pētījumu datu aprobācija:** par pētījumu un rezultātiem sniegti septini ziņojumi starptautiskās zinātniskās konferencēs un viens ziņojums vietējā zinātniskā konferencē, kā arī praktiskā seminārā stādaudzētājiem Latvijā. Darba rezultāti atspoguļoti sešās starptautiski recenzētās un zinātniskās publikācijās angļu valodā, kā arī sešās konferenču tēzēs.

## PĒTĪJUMU APSTĀKLI UN METODIKA

**Pētījuma vieta.** Apsekotas kadiķu audžu vietas un bumbieru stādījumi, aptverot visu Latvijas teritoriju. Pētījumā izmantotie dati par patogēna attīstības cikla īpatnībām, bumbieru – kadiķu rūsas attīstības un bojājuma pakāpes atkarībā no bumbieru genotipa novērtēšanai, kā arī agroekoloģisko apstākļu ietekmes uz *Gymnosporangium sabinae* attīstības ciklu, izplatību un attīstības pakāpi novērtēšanai, ievākti Dārzkopības institūta (DI) trijos dažādos bumbieru stādījumos no 2008. līdz 2015. gadam. Siltumnīcā iekārtoti izmēģinājumi patogēna pārziemošanas izpētei un bumbieru genotipu izturības pret bumbieru – kadiķu rūsu pārbaudei. Inokulācijas izmēģinājumiem izmantots augu materiāls, kas izaudzēts no Kazraušu bumbieres sēklām.

**Paraugu ievākšana.** Paraugi no kadiķiem (augu daļas ar rūsas pazīmēm) ievākti pavasarī, patogēna attīstības cikla sākuma stadijā (aprīlis, maijs), pēc ievākšanas uzglabāti -20 °C. Bumbieru un pīlādžu lapas ar ecīdījām ievāktas rudenī (augusts, septembris), laikā, kad sāk izlidot ecīdījsporas. Ievāktie paraugi izzāvēti un uzglabāti papīra aploksnēs istabas temperatūrā.

**Teleito radziņu, teleito sporu un ecīdījsporu morfoloģijas izpēte.** Teleito radziņu morfoloģiskais raksturojums noteikts paraugu ievākšanas brīdī. Teleito radziņu morfoloģisko pazīmju aprakstīšanai tie sagrupēti pēc noteiktām pazīmēm – novietojuma uz kadiķa, krāsas un radziņu garuma. Teleito sporu morfoloģisko pazīmju pētīšanai, pēc izņemšanas no ledusskapja teleito radziņus piecas minūtes rehidratē destilētā ūdenī istabas temperatūrā. Ecīdījsporas mērītas no vienas lapas vienas ecīdījas. Gaismas mikroskopā (Leica DMLS) (100 × palielinājumā) katram paraugam 100 sporām izmērīts garums un platumis. Mērītas tikai veselas, nebojātas sporas.

**Sugu noteikšana izmantojot sekvencēšanu.** Lai apstiprinātu pēc morfoloģiskajām pazīmēm noteiktās sugas, veikta ribosomālās DNS ITS reģiona sekvencēšana un iegūto sekvenču salīdzināšana ar datu bāzēs pieejamām sekvencēm.

Pirms DNS izdalīšanas, teleito radziņi no kadiķiem un katra ievāktā parauga divas ecīdījas no bumbierēm sasmalcināti šķidrajā slāpeklī. DNS izdalīts izmantojot reaģēntu komplektu *DNeasy Plant Mini Kit* (Qiagen, Vācija) saskaņā ar ražotāja protokolu. DNS koncentrācija un tīriņa mērīta ar spektofotometru ND-1000 (Nano Drop). Ribosomālās DNS ITS reģiona PCR amplifikācija veikta 50 µl reakcijas apjomā termociklera iekārtā *Master Cycler EP Gradient* (Eppendorf, Vācija). Iegūtie PCR amplifikācijas produkti un to aptuvenie garumi pārbaudīti ar elektroforēzi 1.5 % agarozes gēlā, kam pievienots etīdija bromīds. Aptuvenie DNS fragmentu garumi noteikti ar garumu markieri *Gene Ruler 100 bp Plus* (Thermo Scientific, Lietuva). Pirms sekvencēšanas PCR produkti attīrieti, izmantojot reaģēntu komplektu *QIAquick PCR Purification Kit®* (Qiagen, Vācija) saskaņā ar ražotāja protokolu. Iegūto

sekvenču kvalitātes pārbaude, asemblija un nepieciešamības gadījumā manuāla redīgēšana veikta, izmantojot *SqMan* programmu no datorprogrammu paketes *Lasergene 8* (DNASTAR Inc., ASV). Veikta sekvenču salīdzināšana ar *GenBank*<sup>1</sup> datu bāzē pieejamām sekvencēm. To piederības sākotnējai atbilstībai veikta *Mega BLAST* analīze.

**Bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja (*G. sabinae*) attīstības cikla īpatnību izpēte** veikta no 2008. gada līdz 2015. gadam DI bumbieru stādījumā, no kura aptuveni 200 m attālumā aug kazaku kadiķu *Juniperus sabina* grupa, kas ir patogēna saimniekaugs. *Gymnosporangium sabinae* teleito un bazīdijsporu attīstības izpētei tika ievākti kazaku kadiķa zari dažādās slimības attīstības pakāpēs: pirmo slimības pazīmju parādīšanās laikā; teleito radziņu augšanas sākuma stadijā; pēc neliela lietus, kad teleito radziņu izmēri nemainījās; pēc intensīva lietus, kad radziņi ieguvuši ūdeņveida konsistenci. Paraugi laboratorijā mikroskopēti teleito un bazīdijsporu attīstības novērtēšanai. Pētīta teleito radziņu veidošanās un teleito un bazīdijsporu formēšanās. Bumbieru stādījumā pētīta simptomu attīstība uz bumbieru lapām, dzinumiem, augļiem, kā arī pirmo simptomu, spermāciju, ecīdiju veidošanās un ecīdijsporu izlidošanas brīdis. Inficētie dzinumi uzskaitīti, iezīmēti, vērota to attīstība pētījuma perioda veģetācijas sezonās. Visās patogēna attīstības stadijās reģistrēta gaisa vidējā temperatūra, diennakts nokrišņu daudzums, kā arī relatīvais gaisa mitrums.

***G. sabinae* pārziemošanas iespējas izpētei** 2015. gadā ierīkots izmēģinājums siltumnīcā, kur veikta inokulācija. Izvēlēti augi, kuriem 2014. gadā novēroti bumbieru – kadiķu rūsas simptomi. Lai noskaidrotu, vai patogēns spējis pārziemot, 2015. gadā šo genotipu viens vai divi zari inficēti, pārējie nē. Izmēģinājumā izmantotie zari norobežoti ar izolatoriem, kurus noņēma uzreiz pēc inkubācijas perioda. Inficēšana veikta ar bazīdijsporu suspensiju, kas iegūta no *J. sabina* (1 ml =  $6 \times 10^5$  sporu). Pavisam inficēti 9 bumbieru genotipi, izveidojot 20 atkārtojumus, no kuriem 11 atkārtojumi inficēti, bet 9 – neinficēti. Novērojumi veikti pēc masveida simptomu parādīšanās (jūnija pirmā dekāde), uzskaitot inficētos un neinficētos genotipus, kā arī reģistrējot plankumu biežumu uz lapām.

**Bumbieru – kadiķu rūsas attīstības un bojājumu pakāpe.** Attīstības pakāpe bumbieru stādījumā vērtēta vizuāli veģetācijas sezonā vienā laikā, jūlijā mēnesī (pamatojoties uz patogēna attīstības ciklu, jo šajā laikā ir pilnīgi attīstījušās ecīdijsporas). Pētījuma periodā (2008. – 2015. g.) novērtēti 271 bumbieru genotipi. Attīstības pakāpes noteikšanai izmantota vērtēšanas skala piecu balļu sistēmā, kur: 0 – uz lapām simptomu nav; 5 – no 81 līdz 100% lapas ar simptomiem.

Bojājumu pakāpe uz lapām noteikta 260 bumbieru genotipi, laikā no 2012. līdz 2015. gadam.

---

<sup>1</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> 08.09.2016.

Jūlijā, augustā no katras bumbieru genotipa koka vai zara, randomizēti savāktas 100 lapas. Tās sagrupētas kategorijās atkarībā no tā, cik ecīdijas ir uz katras lapas, tāpat uzskaitītas, cik lapas ir katrā bojājumu kategorijā. Bojājumu pakāpe aprēķināta, izmantojot formulu (1), kuru savā pētījumā aprakstījusi Juhasova, Praslieka, 2002:

$$BP = \frac{(0 \times a) + (1 \times b) + (2 \times c) + (3 \times d)}{4} \div 100 \quad (1)$$

kur:

BP – bojājumu pakāpe;

bojājumu kategorijas nummurs: 0 – uz lapas ecīdijas nav; 1 – uz lapas no 1 līdz 3 ecīdijas; 2 – uz lapas no 4 līdz 7 ecīdijas; 3 – uz lapas 8 un vairāk ecīdijas;

4 – kategoriju skaits skalā;

100 – kopējais apskaņito lapu skaits;

a, b, c, d – lapu skaits kategorijā.

**Bumbieru genotipu izturības pret bumbieru – kadiķu rūsu pārbaude siltumnīcā.** Bumbieru genotipi (Kazraušu sēklaudži) ( $n=20$ ) inokulēti ar bazīdijsporu suspensiju no *J. sabina*. Genotipu izturības/ieņemības vērtēšana veikta pēc masveida simptomu parādīšanās (jūnija pirmā dekāde), uzskaitot genotipus ar un bez simptomiem, ka arī aprakstot plankumu morfoloģiskās īpašības.

**Agroekoloģisko faktoru nozīme** pētīta šķirnes ‘Suvenīrs’, kas audzēta uz sēklaudžu potcelma Kazrauši (stādīšanas gadi – 2002. un 2004.) stādījumā no 2008. līdz 2015. gadam. Stādīšanas attālums starp kokiem:  $4 \times 3$  m. Koku atrašanās vieta izmēģinājumā randomizēta.

**Datu matemātiskā apstrāde.** Iegūto pētījuma datu statistiskā analīze veikta, izmantojot programmas SPSS v. 15 aprakstošās statistikas moduli, vienfaktora dispersijas analīzi (ANOVA), izvērtējot starpību būtiskumu pie ticamības līmeņa  $p=0.05$ , kā arī izmantota korelācijas analīze un Duncana tests.

**Meteoroloģisko apstākļu raksturojums.** Aprakstot meteoroloģiskos apstāklus, analizēti rādītāji, kas ietekmē slimības attīstību – nokrišņu daudzums un vidējā gaisa temperatūra periodā no aprīļa trešās dekādes līdz maija trešajai dekādei. Parasti Latvijā un arī citviet Baltijas reģionos šis ir laiks, kad aktīvi sākas augu veģetācijas periods, savukārt maija trešā dekāde ir pēdējais brīdis sezonā, kad iespējama bazīdijsporu izlidošana no kadiķiem un bumbieru inficēšanās.

Dati iegūti no DI lauka meteo stacijas “Lufft”. Laika posmā no 2008. gada līdz 2015. gadam analizētajos periodos 2010. un 2013. gadā novērots vislielākais kopējais nokrišņu daudzums – 82.8 mm 2010. gadā un 118.9 mm 2013. gadā. Diennakts vidējā gaisa temperatūra kopumā pa gadiem bijusi līdzīga: minimālā  $10.5^{\circ}\text{C}$  2015. gadā, maksimālā  $13.2^{\circ}\text{C}$  2013. gadā.

## REZULTĀTI

### **Latvijā sastopamo *Gymnosporangium* sugu noteikšana uz kadiķiem un bumbierēm**

Eiropā konstatētas deviņas *Gymnosporangium* sugas, no kurām bumbierēm postīga ir *G. sabinae* (Helfer, 2005). Latvijā līdz šim nebija veikti sistematizēti zinātniski pētjumi *Gymnosporangium* sugu identifikācijai, līdz ar to nebija precīzu datu par *Gymnosprangium* sugu sastopamību Latvijā.

*Gymnosporangium* ģints pārstāvji ierosina divmāju rūsas, tāpēc pētījumā apsekoti gan saimniekaugi (kadiķi), gan starpsaimnieki (bumbieres, pīlādži). Kopumā 2012., 2013. un 2014. gadā apsekoti 772 kadiķi (*Juniperus communis* un *J. sabina*), kā arī bumbieres (*Pyrus communis*) un pīlādži (*Sorbus*) no 53 stādījumiem Latvijā. Sugu identificēšanai izmantoti 18 paraugi no *J. sabina*, 4 paraugi no *J. communis*, 60 paraugi no *P. communis* un 3 paraugi no *Sorbus*.

#### ***Gymnosporangium* sugu noteikšana pēc morfoloģiskajām pazīmēm.**

**Teleito stadija.** Pavasarī uz kadiķiem novērota teleito radziņu veidošanās. Lielākajai daļai (16 paraugi) no *Juniperus sabina* ievāktajiem paraugiem radziņi novietoti uz stumbra un/vai uz koksainajiem zariem. Diviem paraugiem radziņus varēja konstatēt arī uz skujām un zaļajiem dzinumiem (paraugi nr. 2 (ievākts Dobelē, DI) un nr. 5 (ievākts Stalgenē)). No *J. communis* ievāktajiem paraugiem radziņi bija izvietoti tikai uz stumbra vai koksainajiem dzinumiem. Lai gan to teleito kolonu jeb kopu skaits bija salīdzinoši lielāks nekā uz *J. sabina* paraugiem, uz skujām un zaļajiem dzinumiem kolonu veidošanās netika konstatēta. Novērotas atšķirības starp radziņu morfoloģiskajām īpašībām uz *J. sabina* un *J. communis* – vienā un tajā pašā laikā ievāktajiem paraugiem atšķirās gan radziņu izmērs, gan krāsa. Visos ievāktajos kadiķu paraugos konstatētas *Gymnosporangium* ģintij raksturīgas divšūnu teleito sporas. Starp visiem ievāktajiem paraugiem sporu garumā un platumā konstatētas būtiskas atšķirības ( $p=0.000$ ). Vidēji teleito sporas ( $n=2200$ ) bija  $51.10 \mu\text{m}$  ( $26 - 101 \mu\text{m}$ ) garas. Būtiski atšķirīgs bija Jūrmalā ievāktais paraugs nr. 10 no *J. communis*. Tam tika konstatētas vidēji  $36.62 \mu\text{m}$  ( $26 - 46 \mu\text{m}$ ) garas un  $23.01 \mu\text{m}$  ( $18 - 27 \mu\text{m}$ ) platas sporas. Līdzīgs sporu izmērs publicēts Helfera (2005) un Kerna (1911) pētījumos aprakstot *G. cornutum* teleito sporu izmērus. Visiem ievāktajiem paraugiem radziņu krāsa būtiski neatšķirās – tie bija oranži. Tā kā radziņu krāsu ietekmē nokrišņu daudzums (Hilber, Siegfried, 1989), tad bālāki radziņi novēroti paraugiem, kur neilgi pirms paraugu ievākšanas konstatēti nokrišņi (paraugu nr. 1, 5 un 6), bet tumšāki – paraugiem, kas ievākti beznokrišņu periodā.

Pēc radziņu garuma, formas un sporu izmēriem ievāktos paraugus iespējams sagrupēt trīs grupās (1. tabula).

1. tabula / Table 1

**No *J. communis* un *J. sabina* ievākto paraugu sadalījums un iespējamā suga pēc teleito stadijas morfoloģijas /**

*The distribution of samples collected from *J. communis* and *J. sabina* and possible species according to morphology of the teleito stage*

| Suga, no kuras ievākts paraugs / Species from which the samples were collected | Paraugu numurs / Sample number   | Radziņu garums / Horn length        | Teleito sporu izmēri / telio spore size, µm |                 | Iespējamā suga saskaņā ar morfoloģiskajām pazīmēm / Possible species according to morphological characteristics |
|--|--|-------------------------------------|---|-----------------|---|
|  |  |                                     | garums / length                             | platums / width |   |
| <i>J. communis</i>   | 10   | īsāki par 3 mm / shorter than 3 mm  | 36.62 (26 – 46)                             | 23.01 (18 – 27) | <i>G. cornutum</i>  |
| <i>J. communis</i>   | 1, 14, 18  | garāki nekā 6 mm / longer than 6 mm | 81.77 (52 – 101)                            | 16.39 (10 – 24) | <i>G. clavariiforme</i>   |
| <i>J. sabina</i>   | 2, 3, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 12.1, 12.2, 13, 13.1, 15, 16, 17, 19, 20, 21 | 3 – 6 mm                            | 47.20 (28 – 72)                             | 23.00 (16 – 39) | <i>G. sabinae</i>   |

**Ecidiālā stadija.** Ievāktajiem paraugiem no bumbierēm un pīlādžiem raksturota ecīdijradziņu forma, krāsa, izvietojums (Hiratsuka, Hiratsuka, 1980; Hiratsuka, Sato, 1982; Lee, Kakishima, 1999). Paraugi aprakstīti laikā, kad izveidojušies ecīdijradziņi un sākusies ecīdijsporu izlidošana. Ecidiālās kopas, kurās attīstās ecīdijsporas, uz bumbierēm galvenokārt novērotas lapu apakšpusē, bet bija sastopamas arī uz dzinumiem un augļiem. Lai gan tie nav tipiski un bieži sastopami, tomēr zinātniskajā literatūrā minēti šādi gadījumi (Mendgen, 1983; Lee, Kakishima, 1999; Yun, Rossman, Byrne, 2009). Būtiskas atšķirības konstatētas starp bumbieru un pīlādžu lapu ecīdijām –

atšķirīga bija gan forma, gan krāsa, gan izmērs. Ecidiālie radziņi uz bumbierēm bija brūni, pudeļveida ar paplašinātu vidusdaļu. Pazīmes sakrīt ar Lee un Kakišima (1999) publikācijā aprakstīto bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja *G. sabinae* ecīdiju morfoloģisko aprakstu. Uz pīlādžiem ecīdijas bija oranžākas. Bumbierēm perīdijas bija gaishi brūnas, pīlādžiem – brūnas, bet uz abiem augim tās bija izteikti attīstītas un izstieptas, *Gymnosporangium* ģintij raksturīgā *Roestelia* tipa. Bumbieru un pīlādžu lapu paraugiem ecīdīsporas bija vienšūnu, neregulāra apļa formā. Sporu lielums būtiski neatšķīrās no literatūrā norādītās informācijas, ka *G. sabinae* ecīdīsporas ir 25 – 31 µm garas un 22 – 29 µm platas, bet *G. cornutum* – 21 – 29 µm garas un 16 – 25 µm platas (Kern, 1911; Helfer, 2005). Apkopojot datus par teleito radziņu, teleito sporu un ecīdīsporu morfoloģiju, salīdzinot tos ar zinātniskajā literatūrā pieejamiem (Kern, 1911; Lee, Kakishima, 1999; Helfer, 2005), iespējams secināt, ka Latvijā sastopamas trīs *Gymnosporangium* sugas – *G. sabinae* (Dicks.) G. Winter uz bumbierēm un kazaku kadiķa, *G. cornutum* Arthur ex F. Kern uz pīlādžiem uz savvaļas kadiķa un *G. clavariiforme* (Jacq.) DC uz savvaļas kadiķa.

***Gymnosporangium* sugu noteikšana izmantojot sekvencēšanu.** Kopumā sekvencēti 24 kadiķu, 56 bumbieru, 2 pīlādžu paraugi. No tiem ITS reģiona kvalitatīvas sekvences iegūtas visiem kadiķu paraugiem, 49 bumbieru un 1 pīlādžu paraugam. Paraugiem Py 27.2, Py 33, S 2.1, S 2.2, Py 25.1.1, Py 0.1, Py 0.2 netika iegūtas kvalitatīvas sekvences. Kadiķu paraugu DNS sekvētu ITS reģiona garums bija no 641 nukleotīda (paraugs nr. 10) līdz 704 nukleotīdiem (paraugs nr. 18), bet bumbierēm un pīlādzim no 673 nukleotīdiem (paraugs Py 26.1) līdz 710 nukleotīdiem (Py 34.1). Salīdzinot identificētās sugas pēc ITS sekvencēm no NCBI Blast datu bāzē pieejamām, konstatēta gandrīz 100% līdzība ar sugu identificēšanu pēc sporu morfoloģijas (izņemot paraugus nr. 10 un S 3.1). Parauga nr. 10 teleito sporu un radziņu morfoloģija, tāpat kā parauga S.3.1 ecīdīstadijas morfoloģiskās pazīmes, atbilda sugas *Gymnosporangium cornutum* aprakstam, tomēr GenBank datu bāzē pieejamās trīs nepilna garuma sekvences *G. cornutum* neuzrādīja līdzību ar pētījumā noteiktajām sekvencēm. Pamatojoties uz sekvētu salīdzināšanu ar GenBank datu bāzē pieejamām sekvencēm, uzrādot augstu maksimālo līdzību (99 – 100%), Latvijā uz bumbierēm (*Pyrus communis*) un kazaku kadiķa (*Juniperus sabina*) sastopama *G. sabinae* un uz savvaļas kadiķa (*Juniperus communis*) – *G. clavariiforme* un nenoskaidrota bazīdijsēne (*uncultured Basidiomycota*), kas pēc teleito stadijas morfoloģijas atbilda *G. cornutum*. Pēc ecīdīstadijas morfoloģijas uz pīlādžu paraugiem sastopama *G. cornutum*.

## *Gymnosporangium* sugu izplatība Latvijā

Bumbieru – kadiķu rūsu ierosina patogēni no *Gymnosporangium* ģints. Tās saimniekaugai ir *Juniperus sabina* un *J. communis* (Kern, 1911, Helfer, 2005), tāpēc visā Latvijas teritorijā (1. attēls) noteiktas *Gymnosporangium* sugas, apsekojot 772 dažādu sugu kadiķus un 53 bumbieru stādījumus 45 vietās Latvijā. Bumbieru lapu paraugu ievākšanas laikā tika apsekoti arī pīlādži, vilkābeles, kas ir starpsaimnieki citām *Gymnosporangium* sugām, tāpēc ievākti 3 pīlādžu lapu paraugi ar rūsas simptomiem. Uz apsekotajām vilkābelēm slimības simptomi netika atrasti. Kopumā Kurzemē apskatīti 189 kadiķi, no kuriem 5 konstatēti rūsas simptomi un 11 bumbieru stādījumi, no kuriem 10 bija inficēti; Zemgalē – 42 kadiķi (15 ar simptomiem) un 12 bumbieru stādījumi (11 inficēti); Latgalē – 155 kadiķi (1 ar simptomiem) un 13 bumbieru stādījumi (12 inficēti); Vidzemē – 386 kadiķi (4 ar simptomiem) un 9 bumbieru stādījumi (8 inficēti).



1. att. Apsekotās vietas ekspedīcijās 2012. – 2014. g.

Fig. 1. Locations surveyed during expeditions in 2012 - 2014

● kadiķi bez infekcijas pazīmēm / junipers without signs of infection; ● kadiķi ar infekcijas pazīmēm / junipers with signs of infection; ♦ bumbieru stādījumi / pear orchards.

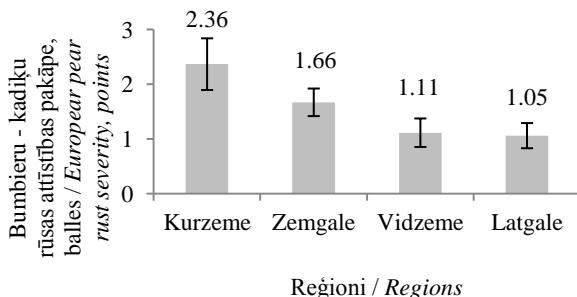
Dekoratīvo kadiķu stādījumi Kurzemē un Zemgalē sastopami pilsētu apstādījumos, baznīcu tuvumā, kā arī kapsētās. Stādījumos Kurzemē galvenokārt bija sastopams kazaku kadiķis *Juniperus sabina*, kas ir viena no bumbieru – kadiķu rūsas ieņēmīgākajām kadiķu sugām. Pilsētu apstādījumos kadiķi pārsvarā bija kohti, ar skrajiem un izretinātiem vainagiem. Uz zariem un stumbriem netika konstatēti hiperstrofi uzbiezinājumi, kas liecinātu par patogēna klātbūtni augā. Tiem augiem, kur simptomi atrasti, teleito radziņi bija redzami tikai atsevišķās zaru vietās, ne pa visu krūmu. Slimība parasti novērota

vecākiem un blīvākiem krūmiem. Atšķirīga situācija novērota kadiķu audzēs un apstādījumos **Vidzemē un Latgalē**. Maršrutā Dobele – Daugavpils novads – Krāslavas novads – Rēzeknes novads – Dobele dekoratīvie un parastie kadiķi atrasti salīdzinoši reti. Kopā apskatīti 155 dažādu sugu kadiķi. Pārsvarā dominē *J. sabina* – dekoratīvos apstādījumos un *J. communis* mežmalās. Latgalē ievākts tikai viens paraugs no kadiķa *J. sabina* Laucesas pagasta kapos. Infekcijas vieta sastopama tikai uz viena no vecākiem stumbriem un pēc ārējām pazīmēm iespējams secināt, ka tā ir daudzgadīga un lokāla. Uz jaunākām auga daļām slimības simptomi netika konstatēti.

Maršrutā Dobele – Gulbene – Balvi – Alūksne – Ape – Gaujiena – Valka – Strenči – Smiltene – Sigulda – Ķegums – Dobele kazaku kadiķis *J. sabina* sastopams reti. Apstādījumos plaši audzē citu sugu kadiķus, kas literatūrā norādīti kā bumbieru – kadiķu rūsas neienēmīgi. *J. communis* izplatīts vietām, bet blīvos stādījumos. Pavisam kopā apskatīti 210 abu sugu kadiķi, no tiem trīs *J. sabina* augiem bija inficēti. Arī šiem augiem infekcijas vieta bija daudzgadīga un lokāla.

Maršrutā Dobele – Ērgļu novads – Cēsu novads – Limbažu novads – Dobele apstādījumos kadiķi nav daudz, pārsvarā dominē tūjas, bukši un citi kokaugi. Kopā apskatīti 176 augi, no kuriem viens parastais kadiķis *J. communis* bija ar rūsas simptomiem.

Salīdzinot bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpi pa reģioniem, mazāk inficētas bumbieres sastopamas Latgales (vidējā slimības attīstības pakāpe – 1.06) un Vidzemes (vidējā slimības attīstības pakāpe – 1.11) dārzos. Būtiski atšķirīga situācija vērojama Kurzemē (vidējā slimības attīstības pakāpe – 2.36) un Zemgalē (vidējā slimības attīstības pakāpe – 1.66) (2. attēls).



**2. att. Bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpe (balles, kur 0 – nav simptomu, 5 – 81 – 100% lapas ar simptomiem) bumbieru stādījumos Latvijā laika periodā no 2012. – 2014. gadam.**

*Fig. 2. Pear - juniper rust severity (points, where 0 - no symptoms, 5 - 81 to 100% of leaves with symptoms) in Latvia pear orchards in 2012 – 2014.*

Kopumā Latvijā bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpe uz bumbierēm bija nevienmērīga – visaugstākā slimības attīstības pakāpe un viskoncentrētākā slimības izplatība novērota Zemgales un Kurzemes pusē, kur ievākta lielākā daļa inficēto paraugu. Latgalē un Vidzemē bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpe uz bumbierēm bija būtiski zemāka.

## Bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja attīstības cikla īpatnības

Bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātājs *Gymnosporangium sabinae* ir divmāju rūsas patogēns ar nepilno attīstības ciklu, kurā veidojas četri sporu veidi – teleito sporas un bazīdijsporas uz kadiķa un spermāciji un ecīdijsporas uz bumbierēm. Tomēr, katras patogēna attīstības stadijas ilgumu un norisi ietekmē agroekoloģiskie faktori, tāpēc nepieciešams noskaidrot šīs īpatnības, lai iespējami precīzāk varētu prognozēt slimības izplatību un attīstības pakāpi konkrētajos apstākļos. Latvijā šādi pētījumi uzsākti 2008. gadā.

**Attīstība uz kadiķu.** *Gymnosporangium sabinae* attīstība uz kadiķu pētīta no 2008. līdz 2015. gadam. Izanalizējot meteoroloģiskos rādītājus septiņu gadu griezumā (2008. – 2015. g.), optimālie apstākļi teleito radziņu veidošanās sākumposmā ir vidējā gaisa temperatūra virs 5 °C, relatīvais gaisa mitrums 74%, nokrišņu daudzums virs 25 mm. Tālākā radziņu attīstība atkarīga no nokrišņu daudzuma un temperatūras. Novērots, ka pie nepietiekama nokrišņu daudzuma un temperatūras, radziņu veidošanās sākuma stadija var ilgt līdz pat mēnesim. Taču, ja temperatūra ir labvēlīga tālākai attīstībai (virs 10 °C), tad pat neliels lietus izmaina radziņu krāsu un lielumu. Stipra un ilgstoša lietus (nokrišņu daudzums no 10 mm) ietekmē radziņi piebriest līdz 2 cm augstumam, iegūst koši oranžu krāsu un želejveida konsistenci. Radziņu mikroskopējot, konstatētas dīgstošas teleito sporas, bazīdiji un bazīdijsporas. Šīs stadijas labvēlīgie apstākļi – vidējā gaisa temperatūra virs 10 °C, relatīvais gaisa mitrums no 80%, nokrišņu daudzums sākot no 10 mm, sakrīt ar apstākļiem, pie kādiem notiek bazīdijsporu izlidošana un bumbieru inficēšana. Novērots, ka šajā radziņu attīstības stadijā, mainoties nokrišņu daudzumam, mainās bazīdijsporu izlidošanas ilgums. Spēcīgu un ilgstošu nokrišņu gadījumā (vairāk nekā 30 mm), sporu izlidošanas periods ir īsaks nekā tad, kad novērots mazāks nokrišņu daudzums. Aktīvo temperatūru summa (ATS) veido pozitīvu korelāciju ar periodu no veģetācijas sākuma līdz bazīdijsporu izlidošanai ( $r=0.93$ ). Astoņu pētījuma gadu griezumā vidējais dienu skaits no veģetācijas sākuma līdz bazīdijsporu izlidošanai bija 23 dienas, ATS sasniedza vidēji 221 °C, vidējā diennakts gaisa temperatūra – 9 °C. Bazīdijsporām atbrīvojoties, uz kadiķu novēro teleito stadijas beigu posma sākuma stadiju. Šī stadija uzskatāma par bumbierēm nekaitīgu, jo bazīdijsporu īpatsvars mikroskopētā

paraugā bija nebūtisks. Paaugstinoties vidējai gaisa temperatūrai (virs 15 °C), teleito stadijas attīstības posms uz kadiķa noslēdzās. Šajā attīstības posmā nebija vērojama nokrišņu ietekme – arī pēc stipra lietus (27 mm) radziņu forma nemainījās.

**Attīstība uz bumbieres.** Bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja attīstības cikla nākamā stadija ir spermogoniju un ecīdiju jeb pavasara stadija un šī sporulācijas stadija norisinās uz bumbierēm. Lauka novērojumi apkopoti sākot no 2008. gada.

Bumbieru – kadiķu rūsas simptomi galvenokārt sastopami uz lapām, retāk uz augļiem un dzinumiem. Novērojumi rāda, ka simptomi uz lapām sastopami tikai dzinumu apakšējā daļā (3. attēls). Tas pierāda, ka starpsaimniekaugu inficēšanās notiek veģetācijas sezona sākumā, un patogēna attīstības ciklā iztrūkst uredo stadija, kas nodrošina inficēšanos visas veģetācijas sezona garumā.



3. att. Simptomu atrāšanās vieta uz inficēta viengadīga dzinuma (27.08.2016.).  
Fig. 3. Location of symptoms on an infected one-year shoot (27.08.2016.).

Inkubācijas perioda garums (dienu skaits no inficēšanās brīža (noteikts pēc bazīdijsporu attīstības un izlidošanas) līdz pirmajiem simptomiem) pa gadiem bija būtiski atšķirīgs ( $p<0.05$ ). Pirmie bumbieru – kadiķu rūsas simptomi uz bumbieru lapām pētījuma periodā konstatēti maija trešās dekādes beigās, masveida simptomu parādīšanās novērota jūnija pirmajā dekādē. Inkubācijas perioda garums – vidēji 24 dienas (īsākais – 17 dienas 2010. g., garākais – 42 dienas 2015. g.). Novērota pozitīva korelācija ATS ar inkubācijas perioda garumu ( $r=0.92$ ), bet negatīva korelācija inkubācijas perioda garumam ar vidējo diennakts gaisa temperatūru ( $r=-0.63$ ). Pie zemākas vidējās gaisa temperatūras inkubācijas periods bija garāks. Nākamā patogēna attīstības stadija – spermāciju parādīšanās uz plankumiem, parasti konstatēta jūlijā

sākumā jeb vidēji 36 dienas pēc simptomu parādīšanās uz lapām, ar vidējo diennakts gaisa temperatūru  $16^{\circ}\text{C}$  un sasniedzot  $575^{\circ}\text{C}$  augstu ATS. Nākamais posms patogēna attīstībā ir ecīdijsstadija, kuras laikā formējas ecīdijsporas, kas inficē saimniekaugus. Ecīdiju veidošanās lapas apakšpusē novērota augusta pirmajā dekādē. Pēc novērojumiem uz lauka, par ecīdijsporu izlidošanas sākumu iespējams uzskatīt augusta beigas. Būtiskas atšķirības starp gadiem konstatētas perioda garumam no simptomu parādīšanās laika līdz ecīdijsporu izlidošanai ( $p<0.05$ ). Periods no simptomu parādīšanās līdz ecīdijsporu izlidošanai vidēji ilgst 93 dienas, ATS –  $1622^{\circ}\text{C}$ , vidējā diennakts gaisa temperatūra –  $17^{\circ}\text{C}$ . Vidējais patogēna attīstības periods uz bumbierēm (ecīdiālā jeb pavasara stadija) bija 117 dienas (garākais 2015. gadā 126 dienas, īsākais 2011. gadā – 110 dienas). Apkopojums par bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja attīstības stadijām uz bumbierēm un to fenoloģiskie rādītāji atspoguļoti 2. tabulā.

2. tabula / Table 2

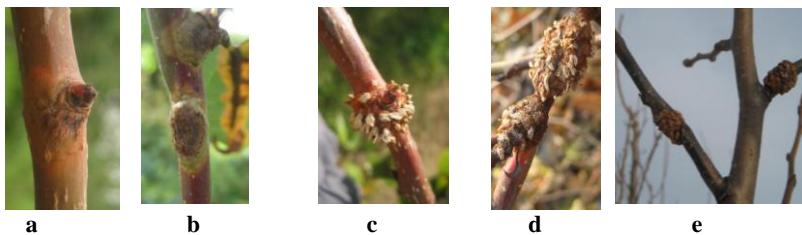
**Bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja attīstības stadijas uz bumbierēm un to fenoloģiskie rādītāji (vidēji 2008. – 2015.)**  
*Developmental stages of European pear rust initiator on pears and their phenological characteristics (average 2008 - 2015)*

| Attīstības stadijas /<br><i>Development stage</i>  | Attīstības stadijas garums, dienas /<br><i>Length of development stage, days</i> | Aktīvo temperatūru summa / <i>Sum of active temperatures, °C</i> | Vidējā diennakts gaisa temperatūra / <i>Average daily air temperature, °C</i> |
|--|--|--|---|
| Inkubācijas periods /<br><i>Incubation</i>   | 24   | 315  | 14  |
| Periods no simptomu parādīšanās līdz spermāciju parādīšanās laikam / <i>The period from onset of symptoms to the onset time of spermatia</i> | 36   | 575  | 16  |
| Periods no simptomu parādīšanās līdz ecīdijsporu izlidošanai / <i>The period from onset of symptoms to release of aeciospores</i>            | 93   | 1622   | 17  |

Bumbieru – kadiķu rūsa galvenokārt bojā lapas, taču pētījumu periodā novērots, ka patogēns inficē arī augļus un dzinumus. Padziļināti, sistematiski

pētījumi par bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja attīstību uz augļiem un dzinumiem līdz šim nav veikti. Vairums autoru apraksta lapas (Hilber, Schüepp, Schwinn, 1990; Jones, Aldwinckle, 1997; Fitzner, Fischer, 2005; Schildberger, 2011; Philipp, Spornberger, Schildberger, 2012.), tikai daži min dzinumus (Митрофанова, 1970; Hunt, O'Reilly, 1978) un augļus (Митрофанова, 1970), tāpēc pētījuma periodā pētīta patogēna attīstība uz dzinumiem.

Uz dzinumiem konstatētas tādas pašas patogēna attīstības stadijas kā uz lapām (4. attēls), taču nelielas atšķirības konstatētas to attīstības ātrumā – uz dzinumiem simptomi parādījās nedaudz vēlāk, un arī turpmākā to attīstība bija lēnāka nekā uz lapām. Patogēna dzīvotspēja bumbieru dzinumos uz lauka vairāku sezonu garumā pētījuma periodā netika novērota – visi inficētie dzinumi nokalta un patogēna attīstība neturpinājās.



4. att. Bumbieru – kadiķu rūsas attīstība uz bumbieres dzinumiem

*Fig. 4. The development of European pear rust on pear shoots*

a – 03.08.2012; b – 11.08.2011; c – 26.09.2012;

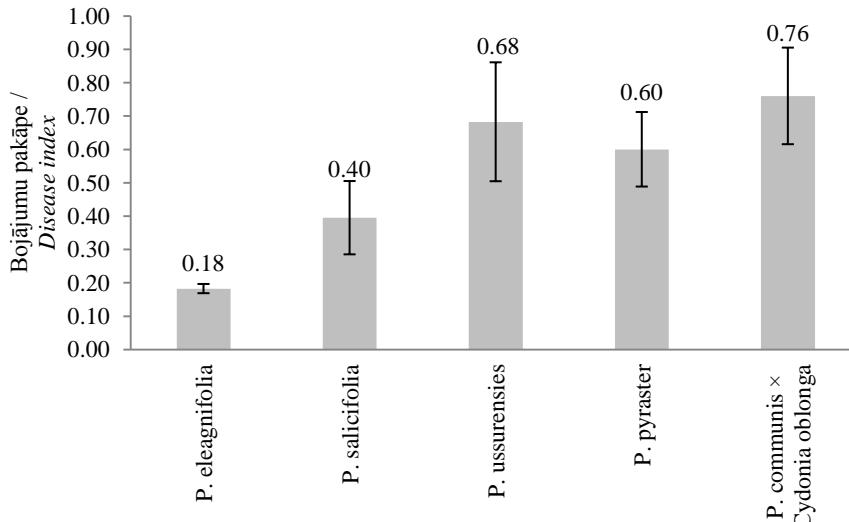
d – 01.11.2010; e – 10.03.2011.

**Patogēna ziemošanas iespējas bumbierēs.** Uzskata, ka *Gymnosporangium* spp. nespēj saglabāties inficētos dzinumos, tomēr ir pētījums, kur ecīdijas novērotas arī nākamajā gadā (Hunt, O'Reilly, 1978). Latvijā ir viedoklis, un tas bieži vien ir minēts populārzinātniskajā literatūrā, ka infekcijas avots var būt inficēti dzinumi, tādēļ bija nepieciešams zinātniski pierādīt patogēna ziemošanas iespējas. Inokulācijas izmēģinājumā izmantoti genotipi, kas atlasīti kā bumbieru – kadiķu rūsas ieņēmīgi, pamatojoties uz 2014. gada inokulācijas rezultātiem. 2015. gadā uz katru koka uzlikti no 2 līdz 3 atkārtojumi, no kuriem viens atkārtojums bija bez inokulēšanas (kontrole). Inokulācijas izmēģinājums siltumnīcā ar mērķi pārbaudīt patogēna ziemošanas iespējas bumbierēs, parādīja, ka 2015. gada sezonā inokulētās auga daļas uzrādīja slimības simptomus, bet uz kontroles jeb neinokulētām augu daļām simptomi netika konstatēti. Tas bija novērojams uz visiem 20 atkārtojumiem. Pamatojoties uz šiem novērojumiem, iespējams izdarīt divus būtiskus secinājumus: bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātājs *G. sabinae* nepārziemo bumbierēs un tas nevar izraisīt atkārtotu infekciju, arī tad, ja iepriekšējā

veģetācijas sezonā augs bijis stipri inficēts; bumbieru – kadiķu rūsas izplatība un attīstības pakāpe ir atkarīga no iespējas norobežot augu bazīdijsporu izlidošanas laikā.

## Bumbieru genotipu ieņēmības vai izturības pret bumbieru – kadiķu rūsu izvērtējums

Bumbieru genotipu slimībizturības novērtēšanai no 2012. gada aprēķināta bojājumu pakāpe (BP). Tās mērķis bija noskaidrot bumbieru – kadiķu rūsas izturīgākos genotipus, kurus nākotnē varētu izmantot kā donorus selekcijas darbam. BP pēc plankumu jeb ecīdiju biežuma uz lapām noteikta 260 bumbieru genotipiņam četrus gadus (2012. – 2015. g.). Vidēji visus pētījuma gadus bumbieru – kadiķu rūsas BP atkarībā no genotipa bija vērojamas nelielas atšķirības, tomēr tās nebija būtiskas ( $p=0.999$ ). Izslēdzot viszemāko un visaugstāko vērtību (attiecīgi 0.18 *P. eleagnifolia* un 0.91 Rižas bumbiere), pēc četru gadu vidējās BP vērtētos genotipus iespējams sagrupēt 5 grupās: BP no 0.25 līdz 0.39; no 0.40 līdz 0.49; no 0.50 līdz 0.59; no 0.60 līdz 0.69 un no 0.70 līdz 0.86. No visiem vērtētajiem genotipiņam tikai 10% konstatēta BP no 0.25 līdz 0.39. Šo grupu galvenokārt veido genotipi no Latvijas ģenētisko resursu kolekcijas, kā arī dažas introducētās šķirnes, piemēram, ‘Hortensia’, ‘David’, ‘Beta’, ‘Tihij Don’ un citas. Augstākā BP veido otru mazāko grupu – ar 7% genotipu, piemēram, ‘Beurre Bosc’, ‘General Leclerc’, ‘Alexandrine Douillard’ un citām. Latvijā audzētām šķirnēm, kā ‘Suvenīrs’, ‘Vasarine Sviestine’, ‘Vidzeme’, ‘Liepājas Sviesta’ un citām, konstatēta BP, kura ietilpst grupā no 0.4 līdz 0.49. Eiropā visvairāk audzētās šķirnes ‘Conference’ BP bija 0.69, kas parāda šķirni kā ieņēmīgu. Tas sakrīt arī ar literatūrā norādīto šīs šķirnes augsto ieņēmību uz bumbieru – kadiķu rūsu (Fischer, Weber, 2005). Krimā novēroto, ka šķirne ‘Beurre Bosc’ ir stipri ieņēmīga, bet šķirne ‘Clapp’s Favourite’ – mazāk (Митрофанова, 1970), apstiprina arī šī pētījuma rezultāti: ‘Beurre Bosc’ vidējā BP bija 0.71, bet ‘Clapp’s Favourite’ – 0.47. Pētījumā Nīderlandē tikai daži bumbieru – kadiķu rūsas simptomi bija novērojami šķirnei ‘Erika’ (Kemp, van Dier, 2000), taču DI stādījumā šķirnes izturība pret šo slimību bija zema (BP 0.54). Visizturīgākā pret bumbieru – kadiķu rūsu DI bumbieru stādījumā bija *P. eleagnifolia* (BP – 0.18), taču tas ir pretrunā ar Ficnera un Fišera pētījumu, kur tieši šī suga bija atzīta kā ieņēmīga (Fitzner, Fischer, 2005), taču neizturīgākā no sugām *P. ussuriensis* arī pētījumā Vācijā uzrādīja tādus pašus rezultātus (5. attēls).



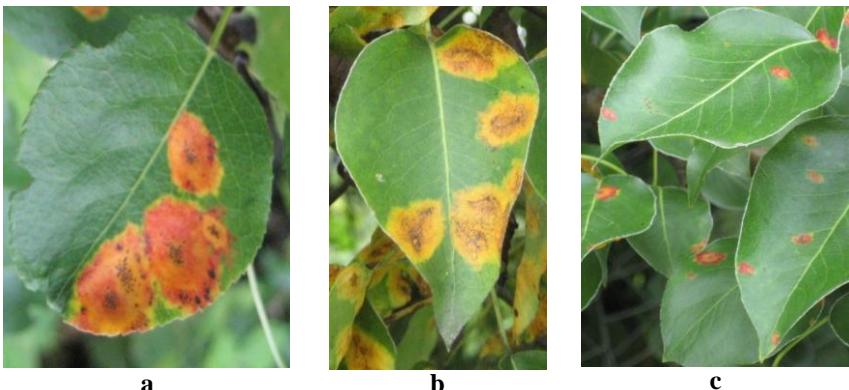
5. att. **Bumbieru – kadiķu rūsas bojājumu pakāpe atkarībā no sugas (vidēji 2012. – 2015. g.).**

Fig. 5. European pear rust disease index depending on the species (average 2012 – 2015).

### **Bumbieru – kadiķu rūsas simptomi atkarībā no bumbieru genotipiem**

Belgijā, slimībzturības pētījumos uz lauka bumbieru šķirņu kolekcijas stādījumā, pētnieki novērojuši genotīpu dažādo reakciju uz patogēna infekciju, norādot, ka tā varētu raksturot šķirnes vai genotipa slimībzturību vai ieņēmību (Kellerhals, Szalatnay, Hunziker et al., 2012).

Šī pētījuma ietvaros stādījumā uz lauka starp bumbieru genotipiem konstatēts dažāds plankumu lielums, krāsa (6. attēls), kā arī atšķirās robeža starp plankumu malām un veselo lapas daļu.



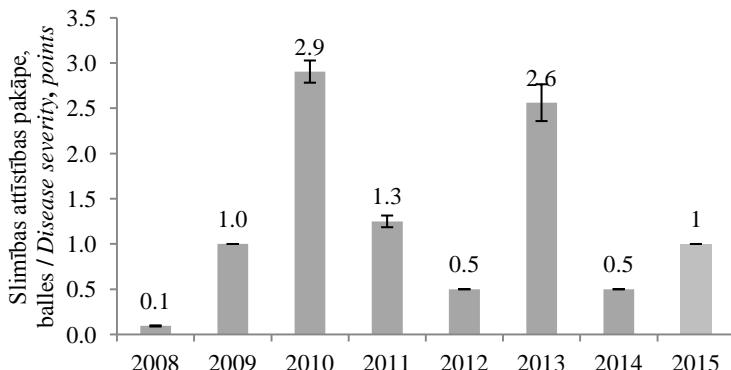
6. att. Dažādu bumbieru sēklaudžu (a, b, c) reakcija uz patogēna infekciju (06.08.2010.).

Fig. 6. The response of various pear seedlings (a, b, c) to pathogen infection (06.08.2010.).

Galvenokārt, uz pārbaudāmo genotipu lapām plankumu lielums bija līdzīgs, taču no visas paraugkopas izdalījās deviņi genotipi ar ļoti sīkiem plankumiem. Tā kā šī pazīme visiem genotipiem bija nemainīga visus pētījuma gadus, tad iespējams uzskatīt, ka šie genotipi ir izturīgi pret konkrētā patogēna infekciju. Pētījuma laikā (2014., 2015. g.) siltumnīcā inokulējot bumbieru genotipus (Kazraušu sēklaudžus) ( $n=20$ ) ar bazīdijsporu suspensiju no *J. sabina*, tika iegūti atšķirīgi rezultāti no literatūrā atspoguļotiem par to, ka dabā nav sastopamas pret bumbieru – kadiķu rūsu izturīgas šķirnes. Izmēģinājumā izdalījās bumbieru genotipi, kuriem netika konstatēti bumbieru – kadiķu rūsas simptomi. Iepriekš aprakstīto lauka un siltumnīcas pētījumu rezultāti rāda, ka ir sastopami bumbieru genotipi, kas ir izturīgi pret bumbieru – kadiķu rūsu. Literatūrā par šo tēmu ir daži pētījumi, to rezultāti balstās tikai uz lauka novērojumiem (Kemp, van Dier, 2000; Kellerhals, Szalatnay, Hunziker et al., 2012), taču nav pētījumi, kas apstiprinātu vai noliegtu bumbieru genotipu rezistenci, kuru uzrādīja siltumnīcas izmēģinājums šī darba ietvaros. Apkopojoj pētījuma rezultātus, jaunu, izturīgu šķirņu veidošanā ieteicams izmantot pret rūsu izturīgos bumbieru genotipus – *Pyrus ussuriensis*, ‘Tjoma’, ‘Sibirjačka’, Kazraušu bumbiere nr. 5, Petrilas nr. 11, ‘Doria’, ‘Elia’, U 678, ‘Doyenne d’Hiver’, kā arī Kazraušu sēklaudžu numurus – 1-1-2v, 1-2-2v, 2-1-2v, 2-2-2v, 2-4-2v, 2-8-2v.

## Agroekoloģisko faktoru ietekme uz bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpi un izplatību

Lai noskaidrotu agroekoloģisko faktoru ietekmi uz bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpi un izplatību, analizēta slimības attīstības pakāpe šķirnei ‘Suvenīrs’, laika periodā no 2008. līdz 2015. gadam. Literatūrā norādīts, ka slimības attīstības pakāpe un izplatība var būt atkarīga no auga vecuma (Charles, Power, Power, 2006; Bonde, Nester, Berner, 2012; Sharabani, Shtienberg, Borenstein et al., 2013), taču šī pētījuma datu matemātiskā analīze koku stādīšanas gadam uzrādīja nebūtisku ietekmi ( $p=0.256$ ) uz bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpi, tāpēc tālāk analizēti meteoroloģiskie apstākļi laika periodā no bazīdijsporu izlidošanas jeb inficēšanās sākuma datuma līdz simptomu parādīšanās laikam uz bumbierēm, kā arī to ietekme uz vidējo slimības attīstības pakāpi šķirnei ‘Suvenīrs’. Bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpe šķirnei ‘Suvenīrs’ būtiski atšķirās pa gadiem ( $p<0.05$ ), visaugstāko pakāpi sasniedzot 2010. un 2013. gadā (7. attēls).



7. att. Bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpe (0 balles – uz lapām simptomu nav, 5 balles – no 81 līdz 100% lapas ar simptomiem) šķirnei ‘Suvenīrs’ (vidēji 2008. – 2015. g.).

Fig. 7. Severity of European pear rust (0 points - leaves without symptoms, 5 points - from 81 to 100% of leaves with symptoms) on cultivar 'Suvenīrs' (average 2008 - 2015).

Slimības attīstības pakāpi un izplatību galvenokārt ietekmē bazīdijsporu veidošanās un attīstība, sporu spēja ieklūt lapu audos (Hau, De Vallavieille-Pope, 2006). Katrs no šiem procesiem var notikt tikai pie noteiktas temperatūras, nokrišņu daudzuma, relatīvā gaisa mitruma, kā arī citiem meteoroloģiskiem rādītājiem (Chen, 2005; Митрофанова, 1970; Pearson,

Seem, Meyer, 1980). Korelācijas analīze uzrādīja vidēju pozitīvu saistību starp nokrišņu daudzumu un slimības attīstības pakāpi ( $r=0.61$ ) un augstāku pozitīvu saistību ( $r=0.73$ ) starp relatīvo gaisa mitrumu un slimības attīstības pakāpi. Nokrišņu daudzuma būtisko ietekmi uz slimības attīstības pakāpi norāda arī zinātniskajā literatūrā atrodamie pētījumi (Митрофанова, 1970; Hilber et al., 1990). Visaugstākā slimības attīstības pakāpe šķirnei ‘Sovenīrs’ konstatēta 2010. un 2013. gadā, kad relatīvais gaisa mitrums bija attiecīgi 82% un 83%. Pie šāda relatīvā gaisa mitruma *Gymnosporangium sabinae* bazīdijsporu izlidošana un bumbieru lapu inficēšana bijusi visprodukīvākā. Radniecīgi līdzīgajam ābeļu rūsas ierosinātāja *Gymnosporangium juniperi – virginianae* bazīdijsporu izlidošanai nepieciešams 85% augsts relatīvais gaisa mitrums (Pearson, Seem, Meyer, 1980). Pie augstāka gaisa mitruma un nokrišņu daudzuma samazinās bazīdijsporu izlidošanas spēja (Pearson, Seem, Meyer, 1980), kā arī samazinās to spēja inficēt lapas (Митрофанова, 1970). Bazīdijsporas ir ļoti jūtīgas pret izžūšanu. Nepietiekamā mitrumā un tiešu saules staru iedarbībā, tās ļoti ātri zaudē dzīvotspēju (Gold, Mendgen, 1991). Līdz ar to nenotiek inficēšanās un slimības attīstības pakāpe samazinās. Pamatojoties uz šajā pētījumā iegūto datu analīzi, *Gymnosporangium sabinae* bazīdijsporu izlidošana un spēja inficēt lapas tika kavēta, kad relatīvais gaisa mitrums bija no 67% (2008. un 2009. gads, slimības attīstības pakāpe 0.1 un 1 balle) līdz 79% (2014. gads, slimības attīstības pakāpe 0.5 balles). Pētījumā par bumbieru kraupi noskaidrots, ka, pazeminoties relatīvajam gaisa mitrumam, pagarinās inkubācijas periods (Spotts, Cervantes, 1991). Datu analīzē par bumbieru – kadiķu rūsu noskaidrota ļoti vāja negatīva korelācija ( $r=-0.10$ ) starp inkubācijas periodu un relatīvo gaisa mitrumu. Vides apstākļu ietekmes uz ābeļu – kadiķu rūsas ierosinātāja *Gymnosporangium juniperi-virginianae* bazīdijsporu izlidošanu, datu matemātiskā analīze pierādīja, \ relatīvā gaisa mitruma nozīmīgumu šajā procesā, bet gaisa temperatūras ietekme netika novērota. Šī pētījuma rezultāti liecina, ka *Gymnosporangium sabinae* bazīdijsporu izlidošana un inficēšanās spēja ir cieši saistīta arī ar vidējo gaisa temperatūru ( $r=0.75$ ). Pētījuma gados periodā no inficēšanās sākuma līdz pirmo simptomu parādīšanās brīdim vidējā gaisa temperatūra bija būtiski atšķirīga ( $p<0.05$ ).

Kopumā korelācijas koeficienti parāda ciešu pozitīvu saistību starp bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpi un relatīvo gaisa mitrumu ( $r=0.73$ ) un vidējo gaisa temperatūru ( $r=0.75$ ), kā arī vidēji ciešu saistību ar nokrišņu daudzumu ( $r=0.60$ ).

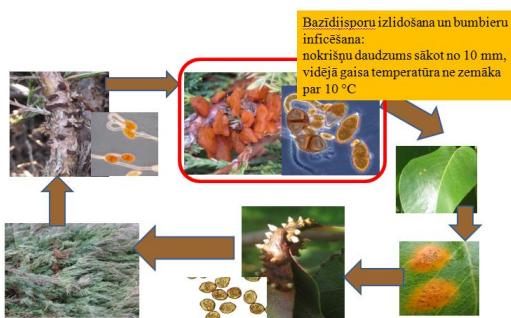
Šī pētījuma rezultāti apliecinā, ka bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpe un izplatība nevar būt atkarīga tikai no viena konkrēta faktora, jo patogēna veiksmīgai attīstībai nepieciešams noteikts, savā starpā sabalansēts agroekoloģisko faktoru kopums (koku stādīšanas gads un atrašanās vieta, saimniekauga attālums līdz stādījumam, meteoroloģiskie apstākļi), taču bumbieru – kadiķu rūsas attīstības pakāpi tomēr ietekmē bazīdijsporu

veidošanās un attīstība, kas savukārt var notikt tikai pie noteiktas temperatūras, nokrišņu daudzuma, relatīvā gaisa mitruma, kā arī citiem meteoroloģiskiem rādītājiem. To apstiprināja analizēto meteoroloģisko datu korelācijas analīze.

## Bumbieru – kadiķu rūsas ierobežošanas iespējas pamatojoties uz patogēna attīstības ciklu

Pamatojoties uz ilggadīgo datu izpēti un analīzi (2008. – 2015. g.), bumbieru – kadiķu rūsas ierobežošanai efektīvi būs tikai fungicīdu smidzinājumi atbilstoši patogēna attīstības cikla īpatnībām. Bazīdijsporu izlidošanas periods atkarībā no laika apstākļiem var būt garš. Bazīdijporu izlidošanas sākums parasti sakrīt ar pumpuru plaukšanu. No Latvijā reģistrētajiem augu aizsardzības līdzekļiem pret bumbieru – kadiķu rūsu pašreiz ieteikts smidzināt pieskares iedarbības fungicīdus – *Effector* (darbīgā viela – ditianons) un *Dithane NT* (d. v. – mankocebs) un sistēmas iedarbības preparātus *Score 250 EC* (d. v. – difenokonazols) un *Topas 100 EC* (d. v. – penkonazols)<sup>2</sup>.

Izpētot bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja attīstības ciklu (2008. – 2015. g.) un izanalizējot smidzināšanas plānus, konstatēts, ka pirmais smidzinājums uz bumbierēm jāveic pēc lietus – nokrišņu daudzums sākot no 10 mm un vidējā gaisa temperatūra ne zemāka par 10 °C. Šādos apstākļos attīstās teleito radzīni, tajos formējās bazīdijsporas un pēc 4 – 5 stundām iespējama masveida bazīdijsporu izlidošana, kas inficē bumbieres (8. att.).



8. att. Bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātāja attīstības cikls un attīstības stadija, kad nepieciešams pirmais smidzinājums slimības ierobežošanai.

*Fig. 8. Development cycle of the European pear rust agent and the stage of development when the first spray should be applied for disease control*

<sup>2</sup> <http://www.vaad.gov.lv/sakums/registri/aalr-lidzeklis.aspx> (08.08.2016)

Lai pēc iespējas precīzāk varētu prognozēt bazīdijsporu izlidošanu, jāseko līdzī laika apstākļu prognozēm un jāvēro izmaiņas uz kadiķiem.

Tālākā bumbieru smidzināšana ir atkarīga no nokrišņu daudzuma un gaisa vidējās temperatūras. Ja pēc smidzinājumiem ir ilgstošs lietus, tie ir jāatkārto, ievērojot nogaidīšanas laiku. Ja pavasaris ir sauss, smidzinājumu skaits samazinās. Paaugstinoties vidējai gaisa temperatūrai virs 15 °C, teleito stadijas posms uz kadiķa noslēdzās, un tas uzskatāms par bumbierēm nekaitīgu, jo mikroskopējot šajā periodā ievāktu paraugu, bazīdijsporu īpatsvars bija nebūtisks. Līdz ar to noslēdzas fungicīdu lietošana bumbieru – kadiķu rūsas ierobežošanai.

Pagaidām vēl nav izveidota IAA sistēma bumbieru slimību ierobežošanai, taču fungicīdu smidzinājumi, pamatojoties uz patogēna attīstības cikla izpēti, ir sākums integrētai slimības ierobežošanai.

## SECINĀJUMI

1. Latvijā sastopamas trīs *Gymnosporangium* sugas:
  - a. uz bumbierēm (*Pyrus communis*) un kazaku kadiķa (*Juniperus sabina*) bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātājs *G. sabinae* (Dicks.) G. Winter;
  - b. uz savvaļas kadiķa (*Juniperus communis*) – *G. clavariiforme* (Jacq.) DC. un *G. cornutum* Arthur ex F. Kern;
  - c. uz pīlādžiem – *G. cornutum* Arthur ex F. Kern.
2. Latvijā bumbieru – kadiķu rūsa sastopama visos apsekotajos bumbieru stādījumos, tomēr visstiprāk bumbieres inficētas piemājas dārzos.
3. Bumbieru – kadiķu rūsas bojājuma pakāpe lauka apstākļos dažādiem bumbieru genotipiņiem bija atšķirīga. Izturīgākie bija: *Pyrus ussuriensis*, ‘Tjoma’, ‘Sibirjačka’, Kazraušu bumbiere nr. 5, Petrilas nr. 11, ‘Doria’, ‘Elia’, U 678, ‘Doyenne d’Hiver’.
4. Kontrolētos apstākļos, izmantojot inokulāciju, atrasti rezistenti Kazraušu sēklaudžu nr. – 1-1-2v, 1-2-2v, 2-1-2v, 2-2-2v, 2-4-2v, 2-8-2v, kas ir potenciāli izmantojami veidojot pret bumbieru – kadiķu rūsu izturīgas šķirnes.
5. Bumbieru inficēšanās ir atkarīga no *Gymnosporangium sabinae* bazīdijsporu veidošanās un izlidošanas, kuru ietekmē meteoroloģiskā situācija. Labvēlīgi apstākļi ir: nokrišņu daudzums sākot no 10 mm un vidējā gaisa temperatūra ne zemāka par 10 °C.
6. Uz dzinumiem konstatētas tādas pašas patogēna attīstības stadijas kā uz lapām, taču attīstība norisinās lēnāk.
7. Bumbieru – kadiķu rūsas ierosinātājs *G. sabinae* bumbieru dzinumos nepārziemo.
8. Bazīdijsporu izlidošanas posms ir visnozīmīgākais slimības ierobežošanā, kad nepieciešams pirmais fungicīdu smidzinājums uz bumbierēm. Atkārtoti smidzinājumi nepieciešami pēc nokrišņiem, ja vidējā gaisa temperatūra ir virs 10 °C. Lai pēc iespējas precīzāk varētu prognozēt bazīdijsporu izlidošanu, jāseko līdzī laika apstākļu prognozēm un jāvēro izmaiņas uz kadiķiem.

# ZINĀTNISKĀ DARBA APROBĀCIJA

## APROBATION OF SCIENTIFIC RESULTS

### Publikācijas, kas indeksētas WoS un /vai SCOPUS / *Articles indexed in WoS and/or SCOPUS*

Lāce B. (2016). New Pear Hybrids for Growing in Latvia. *Acta Horticulturae*, Vol. 1139, p. 57 – 62.

Lāce B., Lācis G. (2015). Evaluation of Pear (*Pyrus communis* L.) Cultivars in Latvia. *Horticultural Science* (Prague), Vol. 42, p. 107 – 113.

Lāce B., Bankina B. (2013). Evaluation of European pear rust severity depending on agro-ecological factors. In: *Research for Rural Development 2013*: annual 19th international scientific conference proceedings, 15-17 May, 2013, Jelgava. Latvia University of Agriculture. Jelgava: LLU. Vol. 1, p. 6 – 12.

### Recenzēti zinātniski raksti / *Peer-reviewed articles*

Lāce B., Moročko-Bičevska I. (2013). European pear rust control possibilities based on life cycle of the pathogen. *Integrated Plant Protection in Fruit Crops. IOBC-WPRS Bulletin*, Vol. 91, p. 367 – 370.

Rancane R., Lace B., Lacis G. (2012). Distribution and development of European pear rust in Latvia and relationship between severity and yield. *Integrated Plant Protection in Fruit Crops*. Subgroup “Pome Fruit Diseases”. IOBC-WPRS Bulletin, Vol. 84, p. 39 – 45.

Prokopova (Lāce) B. (2011). The severity of European pear rust depending on pear cultivars. *Sodininkyste ir darzininkyste*, Vol. 30 (2), p. 43 – 50.

### Citi zinātniskie raksti / *Other scientific articles*

Lāce B., Bankina B. (2013). Dažādu faktoru ietekme uz bumbieru-kadiķu rūsas (ier. *Gymnosporangium sabinae*) attīstības pakāpi šķirnei ‘Suvenīrs’. No: *Ražas svētki „Vecauce 2013”*: *Lauksaimniecības augstākajai izglītībai Latvijā – 150*. Zinātniskā semināra rakstu krājums. Jelgava: LLU, 45. – 48. lpp.

### Konferenču tēžu materiāli / *Abstracts*

Lāce B. (2016). *Gymnosporangium* species - an important issue of plant protection: Review. In: *3rd international scientific conference „Sustainable Fruit Growing: From Plant to Product”*: Book of Abstracts, 17–19 August, 2016, Rīga, Latvija, p. 50.

Lāce B. (2015). New Pear Hybrids for Growing in Latvia. In: *Book of Abstracts, third Balkan Symposium on Fruit Growing*, 16 – 18 September, 2015, Belgrade, Serbia, p. 18.

Lāce B., Lācis G. (2012). Evaluation of Pear (*Pyrus communis* L.) Cultivars Grown in Latvia for Fresh Market and Processing. In: *2nd Symposium on Horticulture in Europe: Book of Abstracts*, 1st – 5th July, Angers, France, p. 282.

Lāce B., Moročko-Bičevska I. (2012). European pear rust control possibilities based on life cycle of the pathogen. In: *Book of Programm and Abstracts, 8th International Scientific Conference „Integrated Plant Protection of Diseases in Fruits”*, 7 – 12 October, 2012, Kusadasi, Turkey, p. 100 – 102.

Rancāne R., Prokopova (Lāce) B. (2011). Distribution and development of European pear rust in Latvia. In: *Book of abstracts, 9th International IOBC/WPRS Workshop on Pome Fruit Diseases*, 29 August – 2 September, 2011, Hasselt, Belgium, p. 62

Prokopova (Lāce) B. (2011). The severity of European pear rust depending on pear cultivars. In: *Abstracts of International Scientific Conference „Climate Change: Agro- and Forest Systems Sustainability”*, 21 – 22 June, 2011, Babtai, Lithuania, p. 72.

#### **Nozaru žurnāli / Local magazines**

Rancāne R., Lāce B. (2013). Bumbiere oranža – ko darīt? *Dārzs un Drava*, Nr. 3 – 4 (640 – 641), 54. – 55. lpp.

Lāce B. (2013). Bumbieru dārzu nedienas. *Agro Tops*, Nr. 6, 78. – 79. lpp.

Prokopova (Lāce) B. (2011). Postošā bumbieru kadiķu rūsa. *Dārza Pasaule*, Nr. 5 (135), 36. – 37. lpp.

Prokopova (Lāce) B. (2008). Uzmanīties no oranžiem plankumiem. *Agro Tops*, Nr. 5 (129), 41. lpp.

#### **Referāti konferencēs / Presentations**

#### **Starptautiskās konferences / International conferences**

Lāce B. (2016). *Gymnosporangium* species – an important issue of plant protection: Review. 3rd International Scientific Conference „Sustainable Fruit Growing: From Plant to Product”, Rīga, Latvija, 17 – 19 August 2016.

Lāce B. (2015). New Pear Hybrids for Growing in Latvia. 3rd Balkan Symposium on Fruit Growing, Belgrade, Serbia, 16 – 18 September 2015.

Lāce B., Moročko-Bičevska I. (2012). European pear rust control possibilities based on life cycle of the pathogen. 8. International Scientific Conference „Integrated plant protection of diseases in fruits”, Kusadasi, Turkey, 7 – 12 October 2012.

Lāce B., Lācis G. (2012). Evaluation of Pear (*Pyrus communis* L.) Cultivars Grown in Latvia for Fresh Market and Processing. II Symposium on Horticulture in Europe, SHE 2012, Angers, France, 1st – 5th July, 2012.

Rancāne R., Prokopova (Lāce) B. (2011). Distribution and development of European pear rust in Latvia. 9th International IOBC/WPRS Workshop on Pome Fruit Diseases, Hasselt, Belgium, 29 August – 2 September 2011.

Prokopova (Lāce) B. (2011). „The severity of European pear rust depending on pear cultivars”. Starptautiskajā zinātniskajā konferencē „Climate Change: Agro- and Forest Systems Sustainability”, 2011.gada 21. un 22. jūnijā Lietuvā, Babtai.

Lāce B., Bankina B. (2013). Evaluation of European pear rust severity depending on agro-ecological factors. 19th International Scientific Conference „Research for Rural Development 2013”, Jelgava, LLU, 15 – 17 May 2013.

### **Konferences Latvijā / Conferences in Latvia**

Lāce Baiba (2013). Latvijā audzēto deserta bumbieru šķirņu novērtējums. Zinātniski praktiskā konference, LLU, Jelgava, 2013. gada 21. un 22. februāris.

Prokopova (Lāce) B. (2011) Bumbieru – kadiķu rūsas (ier. *Gymnosporangium sabinae*) izplatība starp dažām bumbieru šķirnēm. LLU LF Studentu zinātnisko darbu konference, 2011. gada 20. aprīlī.

## INTRODUCTION

Pear (*Pyrus communis* L.) is the second most common pome fruit crop in Latvian orchards, with a total growing area of about 200 hectares. Pear yield and quality is influenced by a number of important diseases. Plant protection systems that ensure the control of diseases have been used worldwide in commercial orchards. This is not applicable for home and organic gardens where plant protection products are not used or used to a very limited extent. Therefore occurrences of European pear rust are increasing, caused by the dioecious pathogen with incomplete development cycle *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter. The development of the pathogen requires both pear and juniper. Various species of junipers are popular in Latvian gardens and this has contributed to the spread of the disease in orchards. Unfortunately, during recent years the disease has also occurred in some commercial orchards, where application of fungicides for European pear rust control has not been sufficiently effective.

The scientific literature provides information mainly about development of European pear rust on leaves, but there are some observations that the pathogen can also infect fruits and shoots. Publications about optimal conditions of telia stage development under *in vitro* conditions are quite common, but there are no reports on characteristics of aecidial development. It is considered that *Gymnosporangium sabinae* is unable to remain in the infected shoots, but in one study aecia spores were observed in the following year (Hunt, O'Reilly, 1978). There is an opinion in Latvia that is often mentioned in the popular literature that the source of infection can be infected shoots, therefore it was necessary to scientifically investigate the overwintering possibilities of the pathogen. Each stage of development is important in the pathogen life cycle and requires certain conditions. Detailed, systematic and long-term studies on the developmental peculiarities of the European pear rust agent have been published to date. It is known that nine *Gymnosporangium* species occur in Europe, but until now, the occurrence of species in Latvia was unknown, as well as their presence on pear trees. Control of European pear rust needs a specific approach in the integrated pest management system. In the only study on European pear rust control indicated that the spraying of junipers with mancozeb has an effective impact on disease control. Currently there are no scientific studies on the effect of pear tree spraying on disease severity. However, it was reported in popular foreign literature that this substance has a positive effect on the reduction of disease severity.

Systematic scientific research in Latvia on the European pear rust development and distribution was initiated in 2008, in the framework of the author's Master Thesis "European pear rust (caused by *Gymnosporangium sabinae*) prevalence and control capacities".

**Hypothesis:** Several species of *Gymnosporangium* occur in Latvia. The development cycle of European pear rust agent is dependent on agro-ecological conditions and pear genotype.

**The aim of the research** was to clarify the impact of agro-ecological factors on *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter biology, European pear rust epidemiology and possibilities of application of integrated pest management for disease control.

**The tasks of the research:**

- to identify species of *Gymnosporangium* occurring in Latvia on junipers and pears;
- to clarify the agro-ecological conditions affecting the developmental cycle, occurrence and disease index of *Gymnosporangium sabinae*;
- to assess disease severity depending on the pear genotype; to develop European pear rust control recommendations for integrated pest management systems.

**The novelty of the research:**

- for the first time *Gymnosporangium* species, which cause European pear rust were identified and their distribution in Latvia determined;
- peculiarities of the European pear rust developmental cycle were studied;
- European pear rust disease index depending on the genotype of pears was evaluated.

**Theses to be defended:**

- several species *Gymnosporangium* occur in Latvia;
- the European pear rust developmental cycle is dependent on agro-ecological conditions and pear genotype;
- control of European pear rust should be based on the developmental cycle of the pathogen in the specific agro-ecological conditions.

**The doctoral thesis** is structured in three sections - Literature review, Material and methods, Results and discussion. The thesis has 105 pages (not including bibliography and appendices); work has 29 tables, 69 figures; 211 bibliographic sources, as well as 44 annexes. Eight conclusions were formulated.

**The practical importance of the results.** The research results and conclusions about *Gymnosporangium sabinae* can be used in the breeding of new cultivars and control of the pathogen not only in Latvia, but also in other European countries.

Studies were conducted at the Institute of Horticulture from 2008 to 2015. Plant material was collected throughout territory of Latvia, inspecting 762 junipers (*Juniperus communis* and *J. sabina*), as well as pears (*Pyrus communis*) and mountain ashes (*Sorbus*) from 53 sites in Latvia. Species

identification was performed on 18 samples of *J. sabina*, 4 samples of *J. communis*, 60 specimens of *P. communis* and 3 samples of *Sorbus*.

**Approbation of research data:** the study and results were presented by seven reports in international scientific conferences and one report in local scientific conference, as well as in workshop for Latvian nurseries. The results are published in the six international peer-reviewed scientific papers in English, as well as six conference abstracts.

## MATERIAL AND METHODS

**Research area.** The location of juniper groves and pear plantations were surveyed, covering the entire territory of Latvia. The data on pathogen cycle characteristics used in study, evaluation of pear - juniper rust severity and disease index depending on the pear genotype and agro-ecological conditions on the *Gymnosporangium sabinae* development cycle, the assessment of distribution and development stage were collected at the Institute of Horticultural (DI) in three different pear plantations from 2008 to 2015. Trials on pathogen overwintering and tests on pear genotype resistance to European pear rust were performed in greenhouse conditions. Kazraušu pear seedlings were used in the inoculation trials.

**Sample collection.** Samples of junipers (parts of plants with signs of rust) were collected in the spring, at the early stage of pathogen development cycle (April, May) and stored at -20 °C after collection. Pear and rowan leaves with aecia were collected in autumn (August, September), at the beginning of aecia spore release. Collected samples were dried and stored in paper envelopes at room temperature.

**Studies of telia horn, telia spore and aecia spore morphology.** Morphological characteristics of telia horns were described at sampling. Telia horns were grouped according to certain characteristics - location on the juniper, color and length of the horn for description of morphological characteristics. For studies of telia spore morphological characteristics, telia horns were taken out from the refrigerator and rehydrated for five minutes in distilled water at room temperature. Aecia spores from aecia on one leaf were measured. A light microscope (Leica DMLS) (magnification  $\times 100$ ) was used to measure the length and width of 100 spores for each sample. Only intact spores were measured.

**Species identification by sequencing.** Sequencing of ribosomal DNA ITS region and comparison with available sequences in databases was carried out to confirm species identified by morphological characteristics.

Telia horns from junipers and two aecia per each collected sample from pears were crushed in liquid nitrogen before DNA extraction. DNA was

extracted using reagent kit *DNeasy Plant Mini Kit* (Qiagen, Germany) according to the manufacturer's protocol. DNA concentration and purity was measured by spectrophotometer ND-1000 (Nano Drop). PCR amplification of ribosomal DNA ITS region was carried out in 50 ml volume using thermo cycler *Master Cycler EP Gradient* (Eppendorf, Germany). The resulting PCR products and their approximate lengths were tested by 1.5% agarose gel electrophoresis, stained by ethidium bromide. Estimated lengths of DNA fragments were determined using the length marker *Gene Ruler 100 bp Plus* (Thermo Scientific, Lithuania). Before sequencing PCR products were purified using the reagent kit *QIAquick PCR Purification Kit®* (Qiagen, Germany) according to the manufacturer's protocol. The quality test of resulting sequences, assembly and, if necessary, manual edition was done using the *SeqMan* program from the software package *Lasergene 8* (DNASTAR Inc., USA). Sequence comparisons with the sequences available in the *GenBank*<sup>3</sup> database were performed. Their initial eligibility was tested by *Mega BLAST* analysis.

**Research on the European pear rust agent (*G. sabinae*) developmental cycle** was carried out from 2008 to 2015 in the DI pear plantation, located about 200 meters from a group of *Juniperus sabina* plants, which are hosts of the pathogen. *Juniperus sabina* branches at different stages of disease development were collected to study development of *Gymnosporangium sabinae* telia and basidia spores: at the time of the first onset of disease; at early stage of telia horn growth; after a light rain when telia horn dimensions did not change; after intense rain, when horns were of a gelatinous consistency. The samples in the laboratory were microscoped to evaluate development of telia and basidia spores. Telia horn formation, telia and basidia spore formation was studied. Development of symptoms on the pear leaves, shoots, fruits, as well as the first symptoms, formation of spermatia and aecia, time of aecia spore release were studied in the pear plantation. Infected shoots were listed, marked and development was observed during growing seasons of the study period. Air average temperature, daily precipitation, as well as relative humidity were recorded for all pathogen developmental stages.

**Research on *G. sabinae* overwintering possibilities** was initiated in the greenhouse in 2015, when inoculation was carried out. For this experiment plants were selected, which had symptoms of European pear rust in 2014. One or two branches of these genotypes were infected in 2015 to determine the ability of the pathogen to hibernate. The branches were separated by insulators, which were removed immediately after the incubation period. Inoculation was performed with basidia spore suspension obtained from *J. sabina* (1 ml =  $6 \times 10^5$  spores). A total of 9 pear genotypes were infected, including 20 repetitions,

---

<sup>3</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> 08.09.2016.

of which 11 repetitions were infected, but 9 - negative. Observations were made after the massive onset of symptoms (the first decade of June), accounting for the infected and non-infected genotypes, as well as recording the frequency of spots on the leaves.

**Severity and disease index of European pear.** Severity was assessed visually in the pear orchard at the same time of growing season in July (based on pathogen development cycle, because aecia spores are fully developed at that moment). 271 pear genotypes in total were measured during the study period (2008 - 2015). Disease severity determination was done according a five-point scale, where 0 - no symptoms on the leaves; 5 - from 81 to 100% leaves with symptoms.

The disease index on the leaves was evaluated for 260 pear genotypes, during the period from 2012 to 2015.

In July, August 100 leaves from each pear genotype tree or branch were randomly collected. They were grouped into categories, depending on aecia number on each leaf, and the number of leaves in each category were counted. The disease index was calculated using the formula (1), described by Juhasova, Praslieka 2002:

$$BP = \frac{(0 \times a) + (1 \times b) + (2 \times c) + (3 \times d)}{4} \div 100 \quad (1)$$

where:

BP – disease index;

leaf damage category: 0 – no aecia on leaf; 1 – from 1 to 3 aecia on leaf; 2 – from 4 to 7 aecia on leaf; 3 – more than 8 aecia on leaf;

4 – number of categories in scale;

100 – total number of measured leaves;

a, b, c, d – number of leaves in each category.

#### **Greenhouse tests of pear genotype resistance to European pear rust.**

Pear genotypes (Kazrauš seedlings) ( $n = 20$ ) were inoculated with a basidia spore suspension from *J. sabina*. Genotype resistance / susceptibility assessment was carried out after a massive onset of symptoms (the first decade of June), accounting for genotypes with and without symptoms, as well as describing morphological characteristics of the spots.

**Significance of agro-ecological factors** was studied on the cultivar 'Suvenīrs', grown on Kazrauši seedling rootstock (planting years - 2002 and 2004) in orchard plot from 2008 to 2015. Planting distance between trees:  $4 \times 3$  m. The tested trees were randomly located in plot.

**Statistical processing of data.** The statistical analysis of research data was performed using the software SPSS v. 15 using the descriptive statistics module, univariate analysis of variance (ANOVA), assessing the significance of the difference to the confidence level of  $p = 0.05$ , correlation analysis and Duncan test.

**Description of meteorological conditions.** Factors influencing the development of the disease were analyzed by describing of meteorological conditions - rainfall and the average air temperature during the period from the third decade of April until the third decade of May. Typically, in Latvia and also in other parts of the Baltic region, the plant growing season starts at this time, while the third decade of May is the last moment of the season for possible release of basidia spores from junipers and infection of pears.

Data was obtained from the DI field meteorological station “Lufft”. During the period from 2008 to 2015, the highest total rainfall was reported in 2010 and 2013 - 82.8 mm in 2010 and 118.9 mm in 2013. Daily average air temperatures were similar over the study period: minimal 10.5 °C in 2015, the maximal 13.2 °C in 2013.

## RESULTS

### Identification of *Gymnosporangium* species occurring in Latvia on junipers and pears

Nine *Gymnosporangium* species have been identified in Europe, of which *G. sabinae* is important for pears (Helfer, 2005). There were no systematized scientific studies until now in Latvia on the identification of *Gymnosporangium* species; therefore there were no accurate data on *Gymnosprangium* species occurrence in Latvia.

Genus *Gymnosporangium* initiates dioecious rusts, therefore host (juniper) and the secondary host (pear, mountain ash) were surveyed. Overall, in 2012, 2013 and 2014, 772 junipers (*Juniperus communis* and *J. sabina*) were surveyed as well as pears (*Pyrus communis*) and mountain ashes (*Sorbus*) from 53 plantations in Latvia. Identification of species was done on 18 samples of *J. sabina*, 4 samples of *J. communis*, 60 specimens of *P. communis* and 3 samples of *Sorbus*.

#### Identification of *Gymnosporangium* species based on the morphological characteristics.

**Telia stage.** Formation of telia horns was observed in spring on junipers. For the majority of collected *Juniperus sabina* samples (16 samples) horns were located on the trunk and / or woody branches. For two samples horns were found on needles and green shoots (samples No. 2 (collected in Dobele, DI) and No. 5 (collected in Stal'gene)). For samples collected from *J. communis* horns were located only on the trunk or woody shoots and formation of horn sets was not observed. Differences in horn morphological characteristics were observed between samples from *J. sabina* and *J. communis* - samples collected at the

same time differed in horn size and color. Two-cell telia spores typical for the *Gymnosporangium* genus were detected in all samples collected on junipers. Significant differences ( $p = 0.000$ ) were detected between length and width of collected spore samples. On average telia spores ( $n = 2200$ ) were  $51.10 \mu\text{m}$  ( $26\text{-}101 \mu\text{m}$ ) long. Sample no. 10 collected from *J. communis* in Jūrmala was significantly different, with an average spore length of  $36.62 \mu\text{m}$  ( $26\text{-}46 \mu\text{m}$ ) and  $1.23 \mu\text{m}$  ( $18\text{-}27 \mu\text{m}$ ) width. A similar spore size was reported by Helfer (2005) and Kern (1911) describing *G. cornutum* telia spore size. Collected samples did not have significantly different horns colour - they all were orange. The horn colour is affected by precipitation (Hilbers, Siegfried, 1989), therefore paler horns were observed in samples collected shortly after rain (samples no. 1, 5 and 6), but darker ones in samples collected during dry periods.

Collected samples can be grouped into three groups (Table 1) according to horn length, shape and size of spores.

**Aecia stage.** Shape, color, location of aecia horns was described for samples collected from pears and rowanberries (Hiratsuka, Hiratsuka, 1980; Hiratsuka, Sato, 1982; Lee, Kakishima, 1999). Samples were described at the time when aecia horns developed and started release of aecia spores. Aecia groups, where aecia spores are developing, were observed mainly on the bottom of pear leaves, but were also on the shoots and fruits. Although this is not a typical and common occurrence, in some scientific publications it was mentioned (Mendgen, 1983; Lee, Kakishima, 1999; Yun, Rossman, Byrne, 2009). Significant differences in shape, color and size were found between pear and rowan leave aecia. Aecia horns on pears were brown, balonoid with an extended middle part. These traits coincide with the morphological description of aecia of the European pear rust agent *G. sabinae* by Lee and Kakishima (1999). Aecia on rowans were more orange. Peridiums on pears were light brown, on rowans - brown, but on both species they were well developed and stretched, typical of the genus *Gymnosporangium Roestelia* type. Aecia spores on pear and rowan were unicellular, with an irregular circular form. Size of spores was not significantly different from the information given in the literature that *G. sabinae* aecia spores are  $25\text{-}31 \mu\text{m}$  long and  $22$  to  $29 \mu\text{m}$  wide, but *G. cornutum* -  $21\text{-}29 \mu\text{m}$  long and  $16$  to  $25 \mu\text{m}$  wide (Kern, 1911; Helfer, 2005). Based on morphology of telia horns, telia and aecia spores and comparing with available literature (Kern, 1911; Lee, Kakishima, 1999; Helfer, 2005), it can be concluded that three *Gymnosporangium* species occur in Latvia - *G. sabinae* (Dicks.) G. Winter on pear and Cossack juniper, *G. cornutum* Arthur ex F. Kern on rowans and wild junipers and *G. clavariiforme* (Jacq.) DC on wild juniper.

**Identification of *Gymnosporangium* species by sequencing.** Twenty four juniper, 56 pear and 2 rowan samples were sequenced. High-quality ITS region sequences were obtained for all juniper samples, 49 pear and one rowan sample. Quality sequences were not obtained for samples Py 27.2, Py 33, S 2.1,

S 2.2, Py 25.1.1, Py 0.1, Py 0.2. Juniper sample DNA sequences of the ITS region were from 641 nucleotides (sample no. 10) to 704 nucleotides (sample no. 18) in length, but for pear and rowan samples from 673 nucleotides (sample Py 26.1) to 710 nucleotides (Py 34.1). Obtained sequences were compared with the ITS sequences from the NCBI Blast database available for identified species, and almost 100% similarity was found with species identified by spore morphology (except for samples no. 10 and S 3.1). Telia horn and spore morphology of sample no. 10, as well as morphological features of aecial stage for sample S.3.1 corresponded to the description of species *Gymnosporangium cornutum*, but three partial sequences of *G. cornutum* available in the GenBank database did not show similarity with the obtained set of sequences. According to the sequence comparisons with the sequences available in the GenBank database and representing a high similarity (99 - 100%), *G. sabinae* was identified on Latvian pears (*Pyrus communis*) and Cossack junipers (*Juniperus sabina*) whereas on wild juniper (*Juniperus communis*) - *G. clavariiforme* and uncultured *Basidiomycota*, which telia stage morphology corresponded to *G. cornutum* were identified. Morphology of aecial stage identified *G. cornutum* on rowan samples.

## Distribution of *Gymnosporangium* species in Latvia

European pear rust is caused by pathogens of the genus *Gymnosporangium*. Its host plant is *Juniperus sabina* and *J. communis* (Kern, 1911, Helfer, 2005), therefore certain *Gymnosporangium* species were identified in the entire territory of Latvia (Figure 1) and the surveyed 772 junipers of different species, 53 pear orchards in 45 sites. During pear sampling rowans and hawthorns were also surveyed, which are the secondary hosts for other *Gymnosporangium* species, and 3 rowan samples with rust symptoms were collected. Disease symptoms were not found on surveyed hawthorns. Overall, 189 junipers were examined in Kurzeme, of which 5 had rust symptoms, while 10 of 11 pear orchards were infected; in Zemgale – 42 junipers (15 with symptoms) and 12 pear plantations (11 infected); in Latgale - 155 junipers (1 with symptoms) and 13 pear plantations (12 infected); in Vidzeme - 386 junipers (4 with symptoms) and 9 pear plantations (8 infected).

Ornamental juniper plantations in **Kurzeme and Zemgale** were found in the city greeneries, near churches, as well as in cemeteries. In Kurzeme, mainly Cossack juniper *Juniperus sabina* was found, which is one of the European pear rust host species. In cities junipers were well maintained with sparse and thinned crowns. The branches and trunks had no hypertrophied thickenings, which can indicate the presence of a pathogen in the plant. For

plants with symptoms telia horns were seen only in a few knots, not over the entire shrub. The disease is usually seen on older and denser bushes. A different situation was observed in juniper groves in **Vidzeme and Latgale**. In the expedition route Dobele - Daugavpils - Krāslava - Rēzekne - Dobele ornamental and common junipers were found relatively rarely. A total of 155 junipers of different species were examined. *J. sabina* mostly dominated in ornamental greeneries, whereas *J. communis* on the edges of forests. In Latgale, only one sample of *J. sabina* juniper was collected at the Laucesa parish cemetery. The site of infection was found only on one of the older trunks and according to external features can be concluded that it is perennial and localized. Disease symptoms were not found on the younger parts of the plant.

In the expedition route Dobele - Gulgene - Balvi - Alūksne - Ape - Gaujiena - Valka - Strenči - Smiltene - Sigulda - Ķegums - Dobele Cossack junipers, *J. sabina* occurred rarely. Other species of junipers were widely grown in greeneries, which according to the literature are resistant to European pear rust. *J. communis* was distributed in some sites, but in dense plantations. In total 210 plants of these two species of junipers were observed and three plants of *J. sabina* were infected. Also for these plants infection was perennial and localized.

On the route Dobele - Ērgļi county - Cēsis district - Limbaži district - Dobele junipers was not frequent, the most frequently observed species were thuja (*Thuja occidentalis*), boxes (*Buxus sempervirens*) and other tree plants. In total 176 plants were examined, one common juniper *J. communis* was with rust symptoms.

Comparison of European pear rust severity across the regions showed that less infected pears were found in Latgale (average severity – 1.06) and Vidzeme (average severity - 1.11). A significantly different situation was observed in Kurzeme (average severity – 2.36) and Zemgale (average severity - 1.67) (Figure 2).

Severity of European pear rust on pears was uneven in Latvia - the highest severity of disease and the most concentrated prevalence was observed in Zemgale and Kurzeme, where majority of infected samples was collected. Whereas severity of European pear rust was significantly lower in Latgale and Vidzeme.

## Peculiarities of European pear rust agent development cycle

European pear rust agent *Gymnosporangium sabinae* is a dioecious rust pathogen with an incomplete developmental cycle, which forms four spore types - telia and basidia spores on junipers, and spermatia and aecia spores on pears. However, duration and progress of each developmental stage is affected

by agro-ecological factors, therefore it is necessary to determine these peculiarities to predict the possible spread of disease and its severity under specific circumstances. Such studies in Latvia were started in 2008.

**Development on juniper.** Development of *Gymnosporangium sabinae* on juniper was studied from 2008 to 2015. According to the meteorological parameters in a seven-year period (2008 - 2015), the optimal conditions for the earliest stages of telia horn development are average air temperatures above 5 °C, relative humidity 74% with rainfall above 25 mm. Further development of horns depends on the rainfall and temperature. It was observed that due to the lack of rainfall and temperature, the formation of horns at initial stages can last up to one month. However, under favourable temperature (over 10 °C) for further development, even a small amount of rain can change the colour and size of horns. A strong and long-lasting rain (rainfall of 10 mm) affects the horns; they swell up to 2 cm in length, become bright orange and obtain a gelatinous consistency. Microscopic examination of horns identified germinating telia spores, basidia and basidiospores. The favourable conditions for this stage - the average air temperature above 10 °C, relative humidity of 80%, rainfall from 10 mm, overlaps with conditions, which ensure basidia spore release and pear infection. It was observed that in this horn development stage, changes in rainfall can influence the duration of basidia spore release. In case of strong and sustained rainfall (more than 30 mm), the period of spore release is shorter than during lower rainfall. Sum of active temperature (ATS) has a positive correlation with the period from the beginning of vegetation until release of basidia spores ( $r = 0.93$ ). During the eight-year study period, the average number of days from the beginning of vegetation until basidia spore release was 23 days, ATS reached an average of 221 °C, with average daily temperature - 9 °C. After release of basidia spores the end-phase of an early telia stage was observed on junipers. This stage can be described as harmless for pears because the proportion of basidia spores in microscoped samples was insignificant. The telia stage developmental phase of junipers ended when average air temperature was increasing (above 15 °C). No influence of precipitation was observed at this stage of development - even after heavy rain (27 mm), the shape of horns remained unchanged.

**Development on pear.** The next stage of the European pear rust agent developmental cycle is spermogonia and aecia or spring stage and this sporulation stage takes place on pears. Results of field observations were collected from 2008.

Symptoms of European pear rust mainly occur on the leaves, rarely on fruit and shoots. Observations show that symptoms on leaves are found only in the lower part of shoots (Figure 3). This proves that infection of secondary host occurs at the beginning of the growing season, and that the pathogen is missing the uredio step in the developmental cycle, which enables infection during the entire growing season.

The length of the incubation period (the number of days from the moment of infection, determined according to basidia spore development and release, to the first symptoms) was significantly different ( $p < 0.05$ ) over the study period. The first symptoms of European pear rust on pear leaves during the study period were found at the end of the third decade in May, the massive onset of symptoms was observed in the first decade of June. The length of the incubation period was 24 days on average (the shortest - 17 days in 2010, the longest - 42 days in 2015). A positive correlation was observed between the sum of active temperatures (ATS) and the length of the incubation period ( $r = 0.92$ ), but a negative correlation with the length of the incubation period and the average daily air temperature ( $r = -0.63$ ). A longer incubation period was observed at a lower average temperature. The next stage of pathogen development - spermatia appearance on spots, usually occurs in early July or 36 days on average after the onset of symptoms on the leaves, with the average daily air temperature of 16 °C and ATS of 575 °C. The next stage in the development of the pathogen is the aecial stage, during which aecia spores are formed to infect the primary host. The formation of aecia was observed on the bottom of the leaves in the first decade of August. According to the field observations, beginning of aecia spore release occurs at the end of August. Significant differences between the years was observed for the period from onset of symptoms to aecia spore release ( $p < 0.05$ ). The period from onset of symptoms to aecia spore release was 93 days on average, the ATS - 1622 °C, the average daily air temperature - 17 °C. The average period of pathogen development on pears (aecial or spring stage) was 117 days (the longest in 2015 - 126 days, the shortest in 2011 - 110 days). A summary of European pear rust agent stages on pear and phenological indicators are presented in Table 2.

Detailed and systematic studies of the European pear rust agent development on fruits and shoots are limited. Most authors describe the leaves (Hilber, Schüepp, Schwinn, 1990; Jones, Aldwinckle, 1997; Fitzner, Fischer, 2005; Schildberger, 2011; Filipp, Spornberger, Schildberger, 2012), only a few mentioned shoots (Митрофанова, 1970; Hunt, O'Reilly, 1978) and fruits (Митрофанова, 1970), therefore pathogen development on the shoots was studied. The same stages of pathogen development were observed on shoots as on leaves (Figure 4), but small differences were found in their developmental speed - on the shoots symptoms were slightly delayed, and further development was also slower than on the leaves. Viability of the pathogen in pear shoots in the field was not observed during several of the study years - all infected shoots withered and pathogen development did not continue.

**Possibilities of pathogen overwintering in pears.** It is considered that *Gymnosporangium* spp. is unable to remain in the infected shoots, however in one study aecia were observed in the following year (Hunt, O'Reilly, 1978). There is an opinion in Latvia, which is often mentioned in the popular literature that infected shoots can be a source of pear infection, therefore it was necessary

to scientifically investigate the overwintering capabilities of the pathogen. Inoculation tests were performed on genotypes selected as susceptible to European pear rust, based on the results of inoculation in 2014. In 2015, each tree was inoculated with 2 to 3 replicates, including one without inoculation (control). Experimental results indicated that in 2015 symptoms of the disease were observed only on inoculated branches of the plant, but not on control branches. This was observed for all 20 repeats. Based on these observations, two important conclusions may be stated: the European pear rust agent *G. sabinae* does not overwinter in pears and does not cause re-infection, even if the plant was heavily infected in previous growing season; European pear rust distribution and severity depends on the possibility to isolate plants during basidia spore release.

## **The evaluation of pear genotype susceptibility or resistance to European pear rust**

The disease index (BP) was calculated since 2012 to assess the susceptibility of pear genotypes to disease. The aim was to find pear genotypes resistant to European pear rust for further use in breeding work as resistance donors. BP according to frequency of spots or aecia on leaves was evaluated for 260 pear genotypes during four years (2012 - 2015). Average differences between pear genotypes during all years of survey were small, statistically not significant ( $p = 0.999$ ). By excluding the lowest and highest values (respectively 0.18 for *P. eleagnifolia* and 0.91 Rižas pear), according to four-year average BP values, pear genotypes can be divided into 5 groups: BP from 0.25 to 0.39; from 0.40 to 0.49; from 0.50 to 0.59; from 0.60 to 0.69 and from 0.70 to 0.86. Only 10% of all evaluated genotypes had BP from 0.25 to 0.39. This group is mainly composed of genotypes from the Latvian genetic resources collection, as well as some introduced cultivars, such as 'Hortensia', 'David', 'Beta', 'Tihij Don' and others. Higher values of BP were typical for the other smaller group - with 7% of genotypes, e.g. 'Beurre Bosc', 'General Leclerc', 'Alexandrine Douillard' and others. Cultivars grown in Latvia such as 'Suvenīrs', 'Vasarine Sviestine', 'Vidzeme', 'Liepājas Sviesta' and some others, were included in the group with BP values from 0.4 to 0.49. The most widely grown cultivar in Europe, 'Conference' had a BP value of 0.69, which describes it as susceptible. This coincides with the published information about the high susceptibility of this cultivar to European pear rust (Fischer, Weber, 2005). Results of this study also confirm data from Crimea (Митрофанова, 1970), where the cultivar 'Beurre Bosc' was highly susceptible, but the cultivar 'Clapp's Favourite' – less susceptible: average BP for 'Beurre Bosc' was 0.71, but 'Clapp's Favourite' - 0.47. In the Netherlands cultivar 'Erika' was described

as having few symptoms of European pear rust (Kemp, van Dier, 2000), but at the DI orchard, resistance of this cultivar to the disease was low (BP - 0.54). *P. eleagnifolia* had the highest resistance to European pear rust in the DI orchard (BP – 0.18), which is in contrast to the results reported by Fitzner and Fischer who defined it as susceptible (Fitzner, Fischer, 2005). The most susceptible species was *P. ussuriensis* that fits with results from a study in Germany (Figure 5).

## **The symptoms of European pear rust depending on pear genotypes**

Differential response of pear genotypes to pathogen infection was observed in field conditions during disease susceptibility studies in Belgium (Kellerhals, Szalatnay, Hunziker et al., 2012). In this study differences between genotypes in spot size, colour (Figure 6) also were identified, as well as differences in the border between the spots and the healthy part of the leaves.

The most of the tested genotypes had similar size of spots; only nine genotypes had very small spots. Since this feature was constant for these genotypes throughout all study years, then it is possible to conclude that these genotypes are resistant to the infection of this pathogen. During the study (2014, 2015) pear genotypes (Kazraušu seedlings) ( $n = 20$ ) were inoculated in a greenhouse with a suspension of *J. sabina* basidia spores. The obtained results were different from previously published reports about the absence of natural resistance of pears to European pear rust. During the experiment pear genotypes without symptoms of European pear rust were identified in both field and greenhouse trials. This subject has been previously investigated based only on the results of field observations (Kemp, van Dier, 2000; Kellerhals, Szalatnay, Hunziker et al., 2012), but these studies did not confirm or deny pear genotype resistance based on greenhouse tests performed in this study. According to the research results, the following resistant pear genotypes can be recommended for breeding - *Pyrus ussuriensis*, ‘Tjoma’, ‘Sibirjačka’, Kazraušu pear no. 5, Petrilaš no. 11, ‘Doria’, ‘Elia’, U 678, ‘Doyenne d’Hiver’, as well as Kazraušu seedlings no. - 1-1-2v, 1-2-2v, 2-1-2v, 2-2-2v, 2-4-2v, 2-8-2v.

## **The impact of agro-ecological factors on the severity and distribution of European pear rust**

The disease severity and distribution were analyzed on the cultivar ‘Suvenīrs’ during the period from 2008 to 2015, to clarify the impact of agro-ecological factors on European pear rust. Previous reports indicated that disease

severity and distribution may depend on plant age (Charles, Power, Power, 2006; Bonde, Nester, Berner, 2012; Sharabani, Shtienberg, Borenstein et al., 2013), but statistical analysis of this data from this study did not find significant differences between tree planting year ( $p = 0.256$ ) for European pear rust severity. Therefore meteorological conditions for the period from basidia spore release or infection starting date until the onset of symptoms were analyzed, as well as their impact on the average severity for cultivar ‘Suvenīrs’. The severity of European pear rust on the cultivar ‘Suvenīrs’ varied considerably over the years ( $p < 0.05$ ), with the highest level in 2010 and 2013 (Figure 7).

The severity and distribution of disease is mainly affected by formation and development of basidia spores, and their ability to penetrate leaf tissues (Hau, De Vallavieille-Pope, 2006). Each of these processes can happen only at a specific temperature, rainfall, relative humidity and other meteorological parameters (Chen, 2005; Митрофанова, 1970; Pearson, Seem, Meyer, 1980). Correlation analysis showed a moderately positive relationship between rainfall and the severity of the disease ( $r = 0.61$ ) and a higher positive relationship ( $r = 0.73$ ) between the relative humidity and the severity the disease. Significant impact of rainfall on disease severity has been also reported in other studies (Митрофанова, 1970; Hilber et al., 1990). The highest severity for cultivar ‘Suvenīrs’ was observed in 2010 and 2013, when the relative humidity was 82% and 83%, respectively. At such relative humidity *Gymnosporangium sabinae* basidia spore release and pear leaf infection was the most effective. High relative humidity of 85% is also needed for basidia spore release in the related species *Gymnosporangium juniper – virginianae*, the causal agent of apple rust (Pearson, Seem, Meyer, 1980). At higher humidity and rainfall basidia spore release capability decreases (Pearson, Seem, Meyer, 1980), as well as reduces their ability to infect leaves (Митрофанова, 1970). Basidia spores are very sensitive to drying out; they very quickly lose their viability due to insufficient moisture and direct sunlight (Gold, Mendgen, 1991). Consequently, there is no infection and disease severity decreases. According to analysis of this study data, release of *Gymnosporangium sabinae* basidia spores and their infection ability was hindered when the relative humidity ranged from 67% (disease severity in 2008 and 2009 was 0.1 and 1 points, respectively) to 79% (disease severity in 2014 was 0.5 points). A study on pear scab showed that lower relative humidity increases the incubation period (Spotts, Cervantes, 1991). Data analysis on European pear rust showed a very weak negative correlation ( $r = -0.10$ ) between the incubation period and the relative humidity. Results of this study showed that *Gymnosporangium sabinae* basidia spore release and the infection ability is also closely linked to the average air temperature ( $r = 0.75$ ). The average air temperature was significantly different ( $p < 0.05$ ) between years of study during the period from the start of infection until the appearance of the first symptoms.

Overall, the correlation coefficients showed a strong positive relationship between severity of European pear rust and relative humidity ( $r = 0.73$ ) and the mean air temperature ( $r = 0.75$ ), as well as a moderately close correlation with rainfall ( $r = 0.60$ ).

This study confirms that European pear - juniper rust severity and distribution cannot depend only on one particular factor, because successful development of the pathogen requires a specific and mutually balanced set of agro-ecological factors (tree age, location of the host plants, meteorological conditions). The disease severity is affected by formation and development of basidia spores that can be successful only at specific temperature, rainfall, relative humidity and other meteorological parameters. This was confirmed by correlation analysis of meteorological data.

## **European pear rust control possibilities based on the pathogen development cycle**

On the basis of long-term research and data analysis (2008 - 2015) effective control of European pear rust can be done only by use of fungicide sprays according to pathogen developmental cycle characteristics. Depending on the weather conditions, the period of basidia spore release can be long. Normally basidia spore release coincides with bud burst. In Latvia, control of European pear rust can be done by several currently registered plant protection products, tangent exposure fungicides - *Effector* (active substance - ditianon) and *Dithane* NT (active substance - mancozeb) and systems exposure fungicides *Score* 250 EC (active substance - difenoconazole) and *Topas* 100 EC (active substance - penconazole)<sup>4</sup>.

Investigating the developmental cycle of the European pear rust agent (2008 - 2015) and analyzing the spraying plans, it was found that the first spray on pear should be done after rain - rainfall over 10 mm and average air temperature not lower than 10 °C. In these circumstances telia horns develop where basidia spores are formed and after 4 - 5 hours a massive release of basidia spores is possible to infect pears (Figure 8). The weather forecasts and development of the pathogen on junipers should be monitored in order to predict basidia spore release more accurately.

Further pear spraying depends on rainfall and average air temperature. Sprays should be repeated taking into account waiting periods if long rain periods occur after the first spray. In dry springs, the number of sprays should be decreased. The telia stage on junipers ends when average air temperature rises above 15 °C, this period is considered safe for pears since microscopic

---

<sup>4</sup> <http://www.vaad.gov.lv/sakums/registri/aalr-lidzeklis.aspx> (08.08.2016)

examination of samples taken during this period showed a low frequency of basidia spores. Consequently, the use of fungicides for European pear rust control after this developmental stage is not required.

Currently, an IPM system for pear diseases has not been established, but fungicide sprays on the basis of the pathogen life cycle is the beginning of the development of an integrated disease control system.

## CONCLUSIONS

1. Three *Gymnosporangium* species occur in Latvia:
  - a. on pear (*Pyrus communis*) and Cossack juniper (*Juniperus sabina*) – European pear rust, agent *G. sabinae* (Dicks.) G. Winter;
  - b. on wild juniper (*Juniperus communis*) - *G. clavariiforme* (Jacq.) DC. and *G. cornutum* Arthur ex F. Kern;
  - c. on rowan – *G. cornutum* Arthur ex F. Kern.
2. European pear rust occurred in all surveyed pear orchards in Latvia, the most strongly infected pears were in home gardens.
3. The disease index of European pear rust was different among pear genotypes. The most resistant genotypes were: *Pyrus ussuriensis*, ‘Tjoma’, ‘Sibirjačka’, Kazraušu pear no. 5, Petrilas no. 11, ‘Doria’, ‘Elia’, U 678, ‘Doyenne d’Hiver’.
4. By inoculation under controlled conditions resistant Kazraušu pear seedlings were identified (no. - 1-1-2v, 1-2-2v, 2-1-2v, 2-2-2v, 2-4-2v, 2-8-2v), which are potentially usable for breeding of pear cultivars resistant to European pear rust.
5. Pear infection depends on *Gymnosporangium sabinae* basidia spore formation and release, which is influenced by the meteorological situation. Favorable conditions are rainfall over 10 mm and average air temperature not lower than 10 °C.
6. The stages of pathogen development on shoots are the same as on leaves, but slower.
7. European pear rust agent *G. sabinae* does not overwinter in pear shoots.
8. The basidia spore release stage is the most important for disease control, when the first fungicide spray is necessary on pear. Repeated sprays are needed after rain, when the average air temperature is above 10 °C. The weather forecasts and pathogen development on junipers should be monitored in order to predict basidia spore release more accurately.

