

**Latvijas Lauksaimniecības universitāte  
Lauksaimniecības fakultāte**

Latvia University of Agriculture  
Faculty of Agriculture

**LĪGA VILKA**

**LIELOGU DZĒRVEŅU OGU PUVES  
UN TO IEROSINĀTĀJI LATVIJĀ**

**BERRY ROT AND CAUSAL AGENT OF  
VACCINIUM MACROCARPON IN LATVIA**

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. Biruta Bankina

Darba recenzenti / *reviewers:*

doc. Dr. agr. Gunta Bimšteine  
prof. Dr. habil. biol. Īzaks Rašals  
Ph. D. Inga Moročko-Bičevska

**Disertācijas aizstāvēšana** paredzēta Latvijas Lauksaimniecības universitātes Lauksaimniecības zinātņu nozares Laukkopības apakšnozares promocijas padomes atklātajā sēdē 2016. gada 25. augustā plkst. 10:00, LLU, 123. auditorijā, Lielā ielā 2, Jelgavā.

*The defence of thesis in open session of the Promotion Board of Agriculture will be held on August 25, 2016 at 10:00 in the room 123, Latvia University of Agriculture, Liela street 2, Jelgava, Latvia.*

**Ar zinātnisko darbu var iepazīties** LLU Fundamentālajā bibliotēkā, Jelgavā, Liela ielā 2.

*The thesis is available at the Fundamental Library of Latvia University of Agriculture, Liela street 2, Jelgava, Latvia.*

**Atsauksmes** sūtīt Lauksaimniecības zinātņu nozares Laukkopības apakšnozares promocijas padomes sekretārei Dr. agr. Maijai Ausmanei — Lielā iela 2, Jelgava, LV-3001

**References** are welcome to send to Dr. agr. Maija Ausmane the Secretary of Promotion Bord, Latvia University of Agriculture, Liela street 2, Jelgava, LV-3001, Latvia.

ISBN 978-9984-48-226-2 (*print*)  
ISBN 978-9984-48-227-9 (*online*)

## SATURS / CONTENT

<b>Ievads</b>	4
<b>Pētījumu apstākļi un metodika</b>	6
<b>Rezultāti</b>	9
Lielogu dzērveņu ogu puves izplatība ražas laikā	9
Lielogu dzērveņu ogu puves izplatība ogu uzglabāšanas laikā 2007.–2012. gadā	9
Lielogu dzērveņu ogu puves ierosinātāji un to izplatība Latvijā	11
Ogu puves ierosinātāju izplatība ražas laikā, 2011.–2012. gadā	11
Ogu puves ierosinātāju izplatība uzglabāšanas laikā, 2007.–2012. gadā	12
<i>Fusicoccum putrefaciens</i> bioloģija Latvijā	13
<i>Coleophoma empetri</i> bioloģija Latvijā	15
<i>Phyllosticta elongata</i> bioloģija Latvijā	17
<i>Physalospora vaccinii</i> bioloģija Latvijā	19
<i>Allantophomopsis lycopodina</i> bioloģija Latvijā	20
Uz lielogu dzērvenēm retāk sastopamo sēnu bioloģija Latvijā	22
<i>Diaporthe vaccinii</i> bioloģija Latvijā	23
<i>Diaporthe vaccinii</i> morfoloģiskās īpatnības Latvijā	24
<b>Secinājumi</b>	28
<b>Zinātniskā darba aprobācija</b>	29
 <i>Approbation of the scientific paper</i>	29
<i>Introduction</i>	32
<i>Materials and methods</i>	34
<i>Results</i>	37
<i>Incidence of field rot of American cranberry in plantations in Latvia</i>	37
<i>Incidence of American cranberry storage rot, 2007–2012</i>	37
<i>Causal agents of fruit rot for American cranberry and incidence in Latvia</i>	38
<i>Incidences of causal agents of fruit rot during the harvest in 2011–2012</i>	38
<i>Incidence of causal agents of storage rot during 2007–2012</i>	39
<i>Biology of <i>Fusicoccum putrefaciens</i> in Latvia</i>	39
<i>Biology of <i>Coleophoma empetri</i> in Latvia</i>	40
<i>Biology of <i>Phyllosticta elongata</i> in Latvia</i>	41
<i>Biology of <i>Physalospora vaccinii</i> in Latvia</i>	41
<i>Biology of <i>Allantophomopsis lycopodina</i> in Latvia</i>	42
<i>The less common fungi on American cranberry and their biology in Latvia</i>	43
<i>Biology of <i>Diaporthe vaccinii</i> in Latvia</i>	44
<i>Morphological peculiarities of <i>Diaporthe vaccinii</i> in Latvia</i>	44
<i>Conclusions</i>	47

## IEVADS

Lielogu dzērvenes (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) ir mūžzaļi ēriku (*Ericaceae*) dzimtas krūmi, cēlušies no ziemeļaustrumu Amerikas purviem. Ogas ir vērtīgas, tāpēc pieprasītas arī Eiropā, bet galvenokārt tiek audzētas Ziemeļamerikā. Eiropā ražojoši stādījumi ir izveidoti tikai Latvijā un Baltkrievijā. Latvijā lielogu dzērveņu ražošana ir perspektīva nozare, jo vides apstāklī ir atbilstoši audzēšanai, un ogas piemērotas eksportam. Veiksmīgai ražošanas attīstībai ir nepieciešami pētījumi par dažādām tēmām — ražas palielināšana un kvalitātes paaugstināšana, tajā skaitā arī par dzērveņu slimībām. Latvijā lielogu dzērveņu stādījumu kopējā platība jau pārsniedz 100 ha, slimību izplatības un to ierosinātāju pētījumi uzsākti 2006. gadā.

Lielogu dzērveņu stādījumos Ziemeļamerikā slimību izraisītie zudumi, ja netiek izmantoti fungicīdi, ir ekonomiski nozīmīgi. Ogu puves izplatība uz lauka var sasniegāt pat 100%. Literatūras dati liecina, ka ogu puvi var izraisīt 32 sēnes, no kurām daļa ierosina arī dzinumu, ziedu un augļaizmetņu atmiršanu. Par sēnu patogenitāti ir atšķirīgi viedokļi, jo dažādos pētījumos atsevišķas sugas ir atzītas par endofītiem vai saprotrofiem. Tajā pašā laikā tiek uzsvērts, ka dzērveņu — sēnu atiecības mainās. Piemēram, agrāk *Diaporthe vaccinii* radītie bojājumi nebija būtiski, bet nu jau vairākus gadus *D. vaccinii* Ziemeļamerikā atzīta par vienu no postīgākajiem patogēniem ne tikai lielogu dzērvenēm, bet arī citām *Vaccinium* ģints sugām.

Latvijā bija nepieciešams precīzi identificēt ogu puves ierosinātājus un pētīt to bioloģiju, lai turpmākajos gados būtu iespējama racionāla slimību ierobežošana.

Literatūrā novērojama nekonsekventa slimību ierosinātāju nosaukumu lietošana, nav vienprātības, kurš ir dominējošais. Šajā darbā, ja nav zināms galīgais nosaukums, izmantoti *Index Fungorum*<sup>1</sup> un *MycoBank*<sup>2</sup> datubāzēs esošie.

**Darba hipotēze:** Latvijā lielogu dzērvenēm nozīmīgus ražas zudumus izraisa *Fusicoccum putrefaciens* un *Diaporthe vaccinii*, izraisot ogu puvi ražas laikā un glabātavās.

**Darba mērķis:** pētīt lielogu dzērveņu ogu puves izplatību Latvijā un aprakstīt to ierosinātājus.

### Darba uzdevumi:

1. noteikt ogu puves izplatību stādījumā un uzglabāšanas laikā;
2. identificēt un raksturot ogu puves ierosinātājus;
3. raksturot *Diaporthe vaccinii* morfoloģiskās īpatnības tūrkultūrā;
4. aprakstīt dzērveņu inficēšanās īpatnības ar *D. vaccinii*

<sup>1</sup> <http://www.indexfungorum.org>

<sup>2</sup> <http://www.mycobank.org>

### **Pētījuma novitāte:**

- pirmo reizi identificēti un raksturoti deviņi lielogu dzērveņu slimību ierosinātāji Latvijā: *Fusicoccum putrefaciens*, *Coleophoma empetri*, *Diaporthe vaccinii*, *Physalospora vaccinii*, *Phyllosticta elongata*, *Allantophomopsis lycopodina*, *Botrytis cinerea*, *Discosia artocreas* un *Pestalotia vaccinii*;
- karantīnas organismam *Diaporthe vaccinii* aprakstītas morfoloģiskās īpatnības tūrkultūrā (PDA), izpētītas ogu un dzinumu inficēšanās īpatnības.

### **Aizstāvāmās tēzes:**

- Latvijā lielogu dzērvenēm strauja puves attīstība sākas divus mēnešus pēc novākšanas;
  - lielogu dzērveņu ogu puvi izraisa vairāki patogēni, iespējama arī kompleksa inficēšanās;
  - *Diaporthe vaccinii* morfoloģiskās pazīmes tūrkultūrā ir daudzveidīgas.

## PĒTĪJUMU APSTĀKĻI UN METODIKA

**Pētījuma vieta.** Pētījuma laikā (2007., 2009.–2012.) apsekoti seši lielākie un vecākie lielogu dzērveņu stādījumi Latvijā, kuri ierīkoti daļēji izstrādātos vai izstrādātos kūdras purvos: Rucavas novads, SIA Purva dzērvenīte; Alsungas novads, z/s Stīgas; Apes novads, SIA Lienama-Alūksne; Talsu novads, z/s Piesaule; Pārgaujas novads un A. Piedīša lielogu dzērveņu stādījums. Lielākā daļa stādījumi izveidoti 1990.–1998. gadam, jaunākais ir ierīkots 2002. gadā Babītes novadā, z/s Strēlnieki mākslīgi izveidotā purvā.

Izmantota lielogu dzērveņu šķirne ‘Stevens’ (‘Mc Farlin’ × ‘Potters’).

**Paraugu ievākšana.** Lielogu dzērvenes no stādījumiem ievāktas ražas laikā, atkarībā no ogu gatavības pakāpes (2007. gadā 13. oktobrī ( $\pm 4$  dienas); 2009. gadā 23. oktobrī; ( $\pm 4$  dienas); 2010. gadā 7. oktobrī ( $\pm 3$  dienas); 2011. gadā 4. oktobrī ( $\pm 2$  dienas); 2012. gadā 5. oktobrī ( $\pm 5$  dienas)). Ogas ievāktas no  $0,25\text{ m}^2$  uzskaites rāmīša randomizēti izvēlētās vietās. Puves bojātās ogas uzskaitītas atsevišķi, aprakstītas puves pazīmes un laboratorijā noteikti puves ierosinātāji. Puves izplatība uz lauka noteikta 2011. un 2012. gadā.

**Paraugu apstrāde laboratorijā.** Ievāktās ogas laboratorijā nožāvētas un 100 vizuāli nebojātas, vidēji lielas ogas divos atkārtojumos (kopā 200 ogas), no katras saimniecības parauga, ieliktas noslēdzamos  $15\text{ cm} \times 22\text{ cm}$  polietilēna (PE-LD04) maisiņos un novietotas vēsā kamerā ( $5–7\text{ }^\circ\text{C}$ , relatīvais mitrums  $83\% \pm 2$ ). Katra nākamā kalendārā mēneša beigās ogas pārlasītas. Puves bojātās ogas uzskaitītas un atšķirtas no nebojātām, turpmākai ierosinātāju noteikšanai. Pārējās, vizuāli nebojātās ogas, novietotas atpakaļ kamerā turpmākai novērošanai. Ogu puves izplatība noteikta līdz februāra beigām. 2012. gadā uzskaites veiktas ik pēc piecām dienām līdz 30.11.2012.

Precīzai identifikācijai, visas bojātās ogas uzsētas uz mākslīgās barotnes (kopā aptuveni 5000 ogas). Izmantota galvenokārt kartupeļu dekstrozes agara barotne (PDA). Puves bojātās ogas dezinficētas 95% etanolā šķīdumā 1–2 minūtes, noskalotas destilētā ūdenī un nosusinātas sterilā filtrpapīrā. Ar sterilu skalpelī un pinceti nelieli gabaliņi no puves bojātām ogām novietoti uz sterīlas PDA barotnes Petri traukos. Sēnes izdalītas tūrkultūrā un izolāti glabāti  $20–22\text{ }^\circ\text{C}$  siltā kamerā trīs līdz četras nedēļas. Izolātiem aprakstītas morfoloģiskās pazīmes: vērtēta sēņu koloniju un micēlija uzbūve, attīstība, krāsas īpatnības, aprakstītas sporas pazīmes, mērīts garums un platumis. Sēņu kolonijas fiksētas fotogrāfijās. Ierosinātāji noteikti pēc to morfoloģiskām pazīmēm, salīdzinot iegūtos rezultātus ar zinātniskajā literatūrā publicēto.

Mikroskopēšana veikta ar Olympus BX51 mikroskopu. Fotogrāfijas uzņemtas ar Sony DSC-H7 digitālo fotoaparātu. Darbā visas publicētās fotogrāfijas ir oriģinālas.

**Diaporthe vaccinii morfoloģiskais raksturojums.** Precīzai identifikācijai izvēlēti 44 *D. vaccinii* izolāti no pieciem lielogu dzērveņu audzēšanas reģioniem Latvijā, kur pētījuma laikā patogēns tika konstatēts: 22 izolāti no Babītes novada, 12

no Rucavas novada, 7 no Alsungas novada, 2 no Apes novada un 1 no Pārgaujas novada lielogu dzērveņu stādījumiem. Paraugi iegūti no viskozās ogu puves bojātām ogām ražas laikā un glabātavā 2010. gadā. Izolāti turēti 23 °C siltā kamerā, tumsā. Raksturotas patogēna īpatnības uz kartupeļu dekstrozes agara (PDA) divos atkārtojumos.

Lai rastu sakarības, *D. vaccinii* izolāti sagrupēti pēc līdzīgām pazīmēm: koloniju un micēlija krāsa un struktūra, piknīdu parādīšanās laiks, izvietojums, to daudzums, izmērs. Kopumā 26 izolātiem noteikti konīdiju izmēri: garums un platumis (μm; n = 100).

No 44 *Diaporthe vaccinii* izolātiem 15 izolāti atlasīti ģenētiskām analīzēm, kuru taksonomiskās piederības precizēšanai izmantota ITS1-5.8S-ITS2 reģiona analīze. DNS izdalīta ar NucleoSpin Plant II komerciālo kitu, atbilstoši ražotāja instrukcijām. Polimerāzes ķēdes reakcijai izmantoti universālie praimeri asku sēnēm ITS1F un ITS4. Sekvencēšana veikta Macrogen Europe, Nīderlandē. Iegūtās sekvences salīdzinātas pret *Diaporthe* sēnu ģints references sekvencēm NCBI GenBank datubāzē, kā arī veikta to filogenētiskā analīze ar MEGA 5.2. Sekvences pieejamas NCBI GenBank datubāzē (KP869876–KP869890).

Pētītas *D. vaccinii* inficēšanās īpatnības Latvijas apstākļos, inficējot 50 lielogu dzērvenes ( $10 \times 5$  atkārtojumi) ar sporu suspensiju ( $1 \text{ ml} = 3,7 \times 10^5$  sporu), ogā injicējot un uzpilinot  $0,02 \text{ ml}$  sporu suspensijas. Kontroles variantiem arī izmantotas 50 ogas, kurām tika injicēts un uzpilināts destilēts ūdens. Inficēti 15 dzinumi, gan uzpilinot *D. vaccinii* sporu suspensiju ( $1 \text{ ml} = 3,5 \times 10^5$ ) lapu žāklē, gan injicējot to dzinumā un nedēļu veca micēlija gabaliņi piestiprināti ar parafilmu pie dzinuma gan bez, gan ar ievainojumu. Kontroles variantam atsevišķi novietoti gan lielogu dzērveņu, gan savvaļas dzērveņu dzinumi, kuriem arī pilināts un injicēts destilēts ūdens.

**Datu matemātiskā apstrāde.** Iegūtie rādītāji apstrādāti, izmantojot neparametrisko kopu aprēķinu moduļus, kur aprēķināts pazīmes īpatsvars ( $W$  – izplatība) un standartķēluda, salīdzināta starpība starp divu pazīmju relatīvajiem biežumiem ir vai nav būtiska (Goša, 2003). Datu apstrādāti MS Excel vidē, izmantojot ANOVA dispersijas analīzi, pārbaudot būtiskuma līmeni ( $p < 0,05$ ) (Arhipova un Bāliņa, 2003). Datu apstrāde veikta arī datorprogrammas SPSS 17.0 vidē. *D. vaccinii* morfoloģisko pazīmju biežums noteikts ar datu apstrādes metodi *Descriptives statistics — Frequencies*. Sakarības starp morfoloģisko pazīmju vērtējumiem ballēs noteiktas, izmantojot Pīrsona korelāciju ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ). Puves attīstības ātrums uzglabāšanas laikā aprēķināts pēc formulas (1) (Krantz, 2003):

$$r_1 = \frac{\ln(x_2) - \ln(x_1)}{t_2 - t_1}, \quad (1)$$

kur:

$r_1$  — ātrums

$t_2 - t_1$  — dienu skaits starp uzskaitēm

$x_1$  — puves bojāto ogu skaits pirmajā uzskaitē

$\ln$  — logaritms

$x_2$  — puves bojāto ogu skaits nākamajā uzskaitē

**Meteoroloģisko apstākļu raksturojums.** Meteoroloģiskie apstākļi analizēti, izejot no pieejamās informācijas Latvijas Vides, ģeoloģijas un meteoroloģijas centra mājaslapā (<http://www.meteo.lv>). Salīdzinot gadu novirzes nokrišņu raksturojumu no normas kopš 2000. gada, var secināt, ka no 2007. gada Latvijā ievērojami ir palielinājies nokrišņu daudzums virs normas, īpaši 2010. gadā, savukārt tuvāk normai ir bijis 2011. gads. Savukārt pēdējos pētījuma gados (2010.–2012.) Latvijā visvairāk nokrišņu ar augstākām gaisa temperatūrām sezonas laikā novērotas jūlijā un augustā, kad lielogu dzērvenēm ir ziedēšanas beigas un ogu briešanas periods. Īpaši augustā ogu miza ir visplānākā, līdz ar to ieņēmīgāka pret slimībām. Spēcīgas lietus lāses vai krusas graudi var izraisīt plaisas ogu mizā, caur kuru vieglāk ieklūst patogēni, izraisot ātrāk saslimšanu — ogu puvi. Līdz ar to palielinās risks pieaugt puves izplatībai ražas laikā un arī glabātavās pirmajos mēnešos.

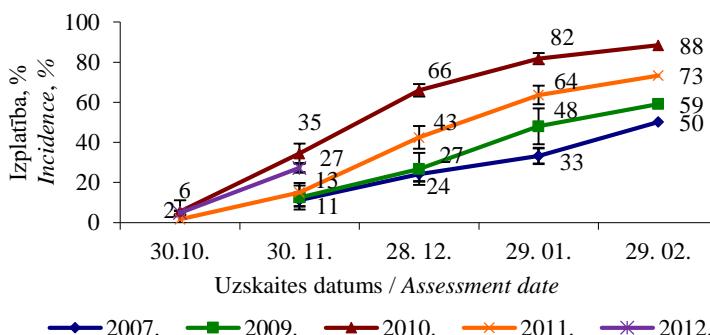
# REZULTĀTI

## Lielogu dzērveņu ogu puves izplatība ražas laikā

Ogu puve ir nozīmīgs faktors, kas samazina lielogu dzērveņu ražas kvantitāti un kvalitāti. Latvijā ogu puves izplatība lielogu dzērveņu stādījumos ražas laikā bija neliela — 2011. gadā vidēji 1,9%, arī 2012. gadā tā sasniedza tikai 2,4% ( $p = 0,688$ ). Salīdzinot puves izplatību Latvijā un Ziemeļamerikā, mūsu valstī ražas laikā tā ir maznozīmīga. 2011. gadā dažādos audzēšanas reģionos Latvijā puves izplatība bija līdzīga, tikai 1,0–2,6% ( $p = 0,212$ ), savukārt 2012. gadā puvušo ogu būtiski vairāk ( $p = 0,034$ ) bija Alsungas nekā Apes, Talsu un Pārgaujas lielogu dzērveņu stādījumos. Ražas laikā tika novērotas ne tikai mīkstas, ūdeņainas, dzeltenbrūnas, tumši brūnas, melnas un atkrāsojušās ogas, bet arī atmiruši auglaizmetni, kas rada lielākus zaudējumus nekā puvušās ogas.

## Lielogu dzērveņu ogu puves izplatība ogu uzglabāšanas laikā 2007.–2012. gadā

Latvijā būtiska ogu puves izplatība (2007.–2011.) notikusi tieši pēc ražas novākšanas, pirmo divu mēnešu laikā uzglabāšanas laikā (1. att.). Līdz novembra beigām vidēji 11–35% ogu jau bija puves bojātas, savukārt līdz decembra beigām to skaits dubultojās, sasniedzot pat 66%. Pēc tam puvušo ogu skaita pieaugums nebija tik straujš, tomēr kopējie ražas zudumi var sasniegt pat 50–88% atkarībā no gada.



1. att. Ogu puves izplatība uzglabāšanas laikā (2007.–2012.)

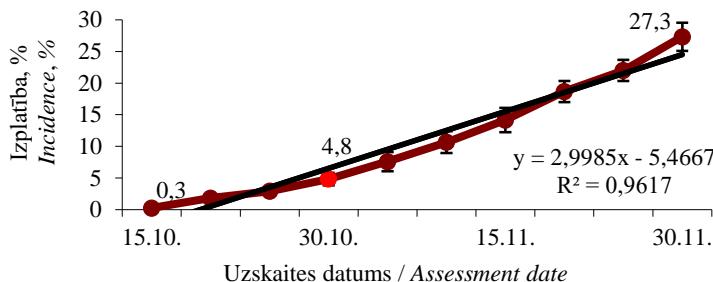
Fig.1. Incidence of fruit rot in storage (2007–2012)

Puvušo ogu daudzums 2007. gada uzglabāšanas periodā bija vismazākais. Visaugstākā puves izplatība novērota 2010. gadā ( $p < 0,001$ ). Iespējams, slimību izplatību veicināja nokrišņiem bagātā vasara, bet īpaši lietus lāses un krusas graudi augustā (ogu veidošanās laikā) kas varēja bojāt ogu mizu, tādējādi veicinot patogēnu

iekļūšanu ogās. Pētījuma laikā novērota tendence puves izplatībai uzgulabāšanas laikā katru gadu pieauga.

Pētījumi 2012. gada rudenī vēlreiz apstiprināja, ka būtiski ( $p < 0,001$ ) ogu puves izplatība glabātavā pieauga no 30. oktobra (2. att.), kas ir tieši mēnesi pēc ogu ievākšanas (1.–9. oktobris), sasniedzot vidēji 4,8%. Visstraujāk ogu puves izplatība pieauga otrajā mēnesī — novembra beigās tā pieauga vairāk nekā piecas reizes (27,3%).

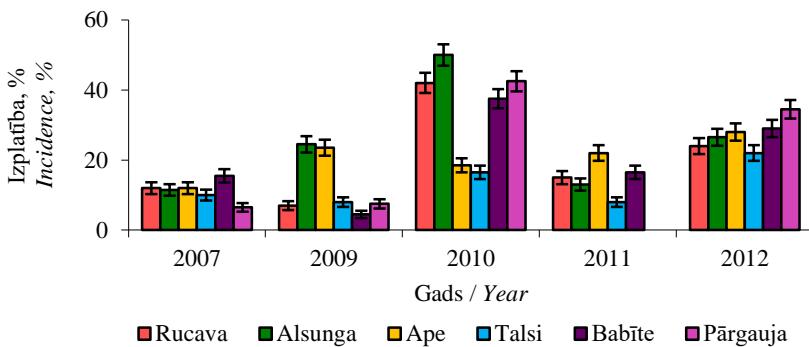
Pētījuma laikā pierādīts, ka Latvijā lielogu dzērvenes pēc ražas novākšanas glabātavā ( $5\text{--}7^{\circ}\text{C}$ ) var uzglabāt līdz novembra beigām, vai vēlākais līdz decembra beigām. Ja ogas paredzētas pārstrādei, tad labāk pēc iespējas ātrāk tās sasaldēt, lai nerastos būtiski ražas zudumi.



2. att. Ogu puves izplatība uzglabāšanas laikā, mēnesi pēc ražas novākšanas 2012. gadā  
*Fig.2. Incidence of fruit rot after harvest, during the month in storage 2012*

**Lielogu dzērveņu ogu puves izplatība apsekotajās saimniecībās.** Lielogu dzērveņu stādījumos Ziemeļamerikā puves izplatība katru gadu ir atšķirīga, bet vēl joprojām nav noskaidroti tās ietekmējošie faktori (Stiles un Oudemans, 1999; Olatinvo, 2003; Sandler, 2008). Arī Latvijā katru gadu varēja novērot atšķirīgu puves izplatības līmeni (3. att.).

Būtiskas atšķirības starp reģioniem netika novērotas ( $p > 0,05$ ). Uzglabāšanas perioda sākumā no Talsu novada ogas uzglabājās nedaudz labāk nekā no Alsungas un Apes novada, ko, iespējams, varētu ietekmēt stādījumu vecums, jo šie ir vieni no vecākajiem lielogu dzērveņu stādījumiem Latvijā (kopš 1995. un 1997. gada).



3. att. Ogu puves izplatība glabātavā novembra beigās dažādos audzēšanas reģionos Latvijā (2007.–2012.), %

*Fig.3. Incidence of fruit rot at the end of November in different cranberry growing regions (2007–2012), %*

### Lielogu dzērveņu ogu puves ierosinātāji un to izplatība Latvijā

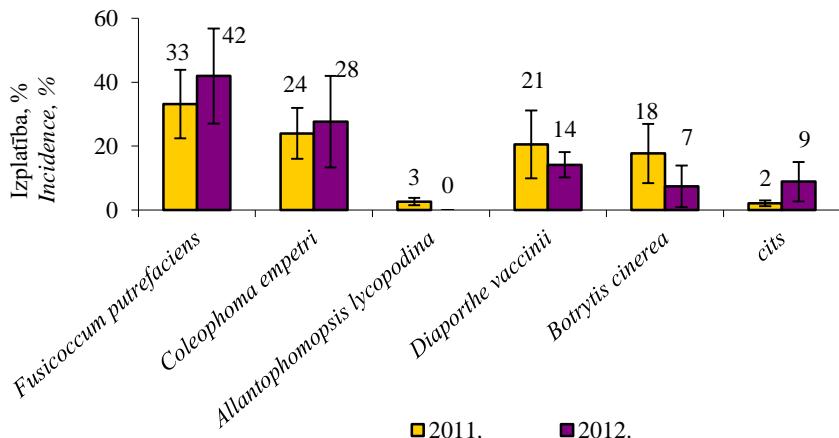
Lielogu dzērveņu stādījumos ražas un uzglabāšanas laikā puves pazīmes uz ogām bija atšķirīgas. Bojātās ogas bija dažādās krāsās — dzeltenbrūnās, tumši brūnās, melnas, atkrāsojušās, no kurām lielākā daļa bija ūdeņainas, bet dažas — mīkstas. Kopš 2006. gada, kad Latvijā uzsākti pirmie pētījumi par lielogu dzērveņu slimībām ir atrasti deviņi slimību ierosinātāji: *Fusicoccum putrefaciens*, *Coleophoma empetri*, *Diaporthe vaccinii*, *Physalospora vaccinii*, *Phyllosticta elongata*, *Allantophomopsis lycopodina*, *Botrytis cinerea*, *Discosia artocreas*, *Pestalotia vaccinii*, kuri ierosina ne tikai ogu puvi, bet daļa no tiem ierosina arī dzinumu, ziedu un augļaizmetņu atmīršanu.

Lielai daļai ogu puves vizuālās pazīmes bija līdzīgas, bet ierosinātāji atšķirīgi. Turklāt bieži bija sastopama arī kompleksa infekcija — no vienas ogas izdalīti vairāki patogēni. 2011. gadā no puves bojātām ogām uz lauka vidēji no vienas ogas izdalītas 1,4 sēnes, savukārt 2012. gadā nedaudz mazāk — 1,1. Uzglabāšanas laikā kompleksa infekcija bija retāk sastopama.

### Ogu puves ierosinātāju izplatība ražas laikā, 2011.–2012. gadā

Ražas laikā 2011. un 2012. gadā ogu puvi izraisīja četri patogēni (4. att.): *Fusicoccum putrefaciens*, *Coleophoma empetri*, *Diaporthe vaccinii* un *Botrytis cinerea* ( $p = 0,533$ ), dominēja *F. putrefaciens* un *C. empetri*. 2011. gadā *Allantophomopsis lycopodina* bija sastopams vairākos stādījumos (Rucavas, Alsungas un Babītes novadā), savukārt 2012. gadā sēne atrasta tikai Babītes novada stādījumā.

Atsevišķos stādījumos no puves bojātām ogām izolēta arī *Pestalotia vaccinii*, *Discosia artocreas* un *Physalospora vaccinii*.



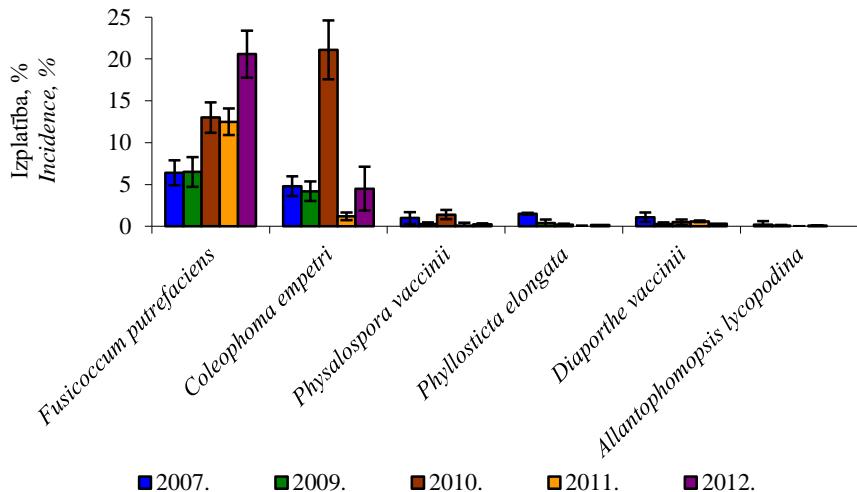
4. att. Ierosinātāju spektrs no puves bojātām ogām ražas laikā, 2011.–2012. gadā, %  
Fig. 4. Incidence of causal agents at harvest 2011–2012, %

### Ogu puves ierosinātāju izplatība uzglabāšanas laikā, 2007.–2012. gadā

Līdzīgi kā ražas laikā, arī uzglabāšanas perioda sākumā *Fusicoccum putrefaciens* un *Coleophoma empetri* izplatība novērojama būtiski lielāka nekā citām sēnēm ( $p = 0,0003$ ; 5. att.), salīdzinot ar pārējiem ierosinātājiem (*Diaporthe vaccinii*, *Physalospora vaccinii*, *Allantophomopsis lycopodina*, *Phyllosticta elongata*). *Physalospora vaccinii* un *Phyllosticta elongata* izplatība uzglabāšanas laikā pieauga, bet samazinājās *B. cinera* izplatība.

Novērota tendēncija, ka katru gadu *Fusicoccum putrefaciens* izplatība uzglabāšanas laikā palielinās, savukārt *Physalospora vaccinii*, *P. elongata* un *D. vaccinii* — samazinās. No puves bojātām ogām uzglabāšanas perioda beigās, dažādos stādījumos Latvijā ievāktām ogām, galvenokārt izdalītas *F. putrefaciens* un *C. empetri* ( $p < 0,001$ ).

ASV un Kanādā *F. putrefaciens* un *C. empetri* biežāk sastopami lielogu dzērveņu audzēšanas reģionos ar mērenu klimatu (Gourley, 1979; Olatinwo et al., 2004; McManus et al., 2003), kas ir pielīdzināms Latvijas klimatam.



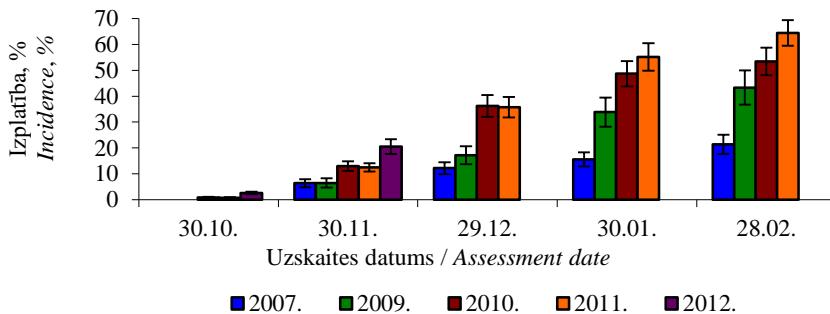
5. att. Ogu puves ierosinātāju izplatība novembra beigās, 2007.–2012. gadā  
*Fig. 5. Incidence of causal agents at the end of November 2007–2012*

### *Fusicoccum putrefaciens* bioloģija Latvijā

Latvijā *Fusicoccum putrefaciens* lielogu dzērvenēm ierosina ne tikai ogu galotnes puvi, bet arī dzinumu, ziedu un augļaizmetņu atmiršanu. Uz ogām puves plankumi ir atrāsojošies, ūdeņaini, mīkstas ar sairušu konsistenci, uzpūtušās.

Puve sastopama gan ražas laikā, gan glabātavā. Latvijā ir ļoti plaši izpēlātīta visos lielogo dzērvenu stādījumos. Ražas laikā *F. putrefaciens* vidēji konstatēts 33–42% puves bojātajās ogās un 37–54% atmirušajos augļaizmetņos. *F. putrefaciens* piknīdas ražas laikā konstatētas uz atmirušajiem augļaizmetņiem galvenokārt Apes, Alsungas un Talsu novada stādījumos, kur arī bija novērota lielākā ogu galotnes puves izplatība.

Uzglabāšanas laikā, 2010.–2012. gadā, kad ogas ievāktas jau oktobra sākumā, *F. putrefaciens* izplatība oktobra beigās sasniedza vidēji tikai 0,8–2,7%. Katrā nākamā kalendārā mēneša beigās varēja novērot būtisku pieaugumu ( $p = 0,018$ ) un novembra beigās tā jau sasniedza 6–21% (6. att.). Decembra beigās izplatība strauji pieauga, sasniedzot jau 12–6% un līdz februāra beigām 21–64%.

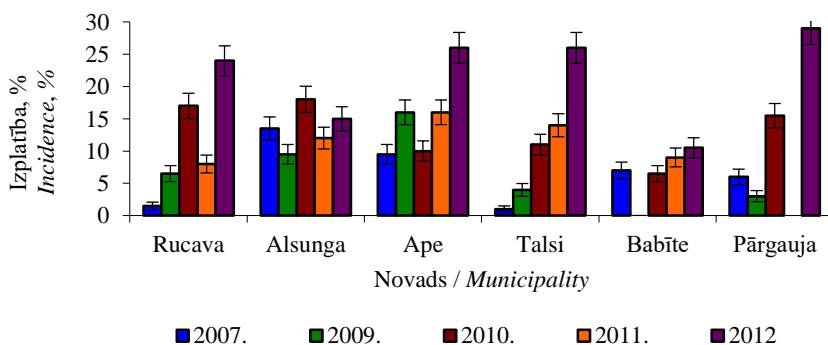


6. att. *Fusicoccum putrefaciens* izplatība uzglabāšanas laikā (2007.–2012.)

Fig. 6. Incidence of *Fusicoccum putrefaciens* in storage (2007–2012)

*F. putrefaciens* izplatība uzglabāšanas laikā gadu gaitā ir krasī mainījusies dažādos audzēšanas reģionos (7. att.). Kopumā viszemākā *F. putrefaciens* izplatība uzglabāšanas laikā (novembra beigās) novērota Babītes novada stādījumā — videjī tikai 7%, savukārt vislielākā — Alsungas novada lielogu dzērveņu stādījumā, bet būtiskas atšķirības starp reģioniem netika novērotas ( $p = 0,234$ ).

Pagaidām Latvijā vēl nav konstatēta asku stadija *Godronia cassandrae* Peck f. *vaccinii* Groves. Tā nav plaši izplatīta arī lielogu dzērveņu stādījumos Ziemeļamerikā, līdz ar to slimības izplatībai lielāka nozīme ir anamorfai stadijai, tāpēc arī vairāk lieto anomorfas nosaukumu *F. putrefaciens*.

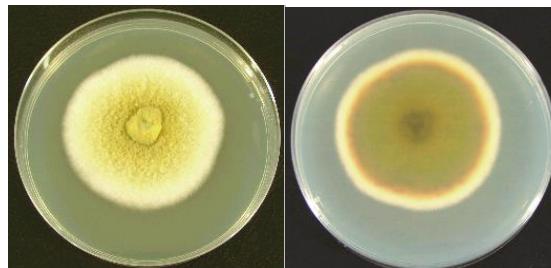


7. att. *Fusicoccum putrefaciens* izplatība novembra beigās uzglabāšanas laikā dažādos audzēšanas reģionos Latvijā (2007.–2012.)

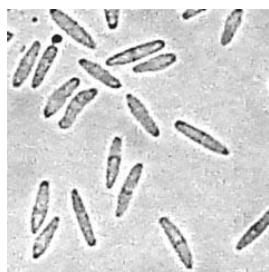
Fig. 7. Incidence of *Fusicoccum putrefaciens* at the end of November in storage in different growing regions (2007–2012)

Sēne tūrkultūrā uz PDA barotnes bija ātri augoša, veidoja ļoti blīvu micēliju (8. att.). Micēlija krāsa bija gaiši pelēka, gaiši zaļgani pelēka, pelēki dzeltena, olīvzaļa, dzeltenzaļa; virs micēlija var veidot nelielus sārtus kristālus. Pīknīdas

veidojas galvenokārt centrā zem micēlija, virspusē izlaužas tikai oranži brūna, oranži sārta, krēmveida sporu masa. Atsevišķi konīdijas bija bezkrāsainas vidēji  $2,0 \times 8,8 \mu\text{m}$  ( $1,5\text{--}3 \times 6\text{--}11 \mu\text{m}$ ) lielas, ieliekas, eliptiskas, tievas, ar vai bez šķērssiņiem (9. att.).



8. att. *Fusicoccum putrefaciens* uz PDA barotnes (no virspuses un apakšpuses).  
Fig. 8. *Fusicoccum putrefaciens* on PDA (upper and reverse side).



9. att. *Fusicoccum putrefaciens* konīdijas uz PDA (400 ×)  
Fig. 9. Conidia of *Fusicoccum putrefaciens* on PDA (400 ×)

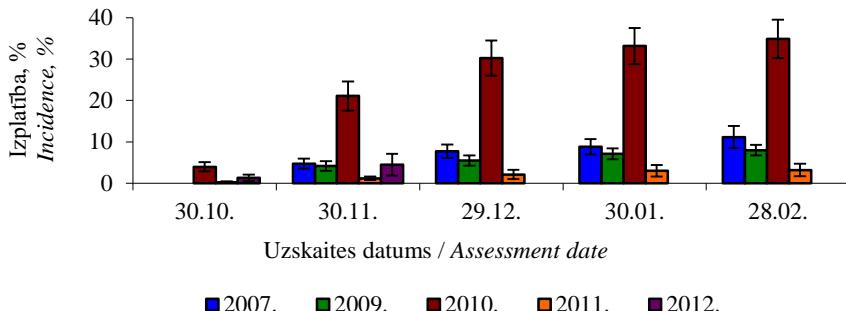
### *Coleophoma empetri* bioloģija Latvijā

*Coleophoma empetri* Latvijā no lielogu dzērvenēm izdalīts ne tikai no puves bojātām ogām ražas un uzglabāšanas laikā, bet arī no atmirušiem vertikāliem dzinumiem, ziediem un augļaizmetniem. Puve sastopama gan uz lauka, gan uzglabāšanas laikā. Patogēns izraisa līdzīgus simptomus uz ogām kā *F. putrefaciens*.

Ražas laikā no puves bojātām ogām 2011. gadā vidēji 20% ogu bija inficētas ar *C. empetri* un 2012. gadā līdz 30%. Sēne bija sastopama visos apsekotajos lielogu dzērveņu stādījumos Latvijā. Vislielākā *C. empetri* izplatība novērota Babītes novada z/s Strēlnieki stādījumā 56% (2011.) un 78% (2012.).

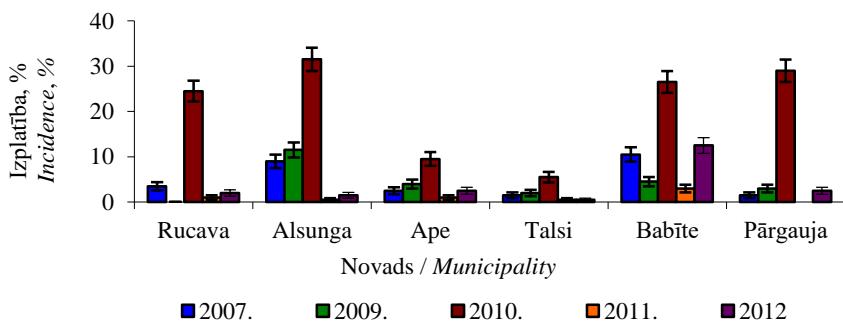
Ogu uzglabāšanas laikā *C. empetri* izplatība 2007., 2009. un 2011. gadā vidēji no novembra līdz februāra beigām sasniedza tikai 3–7% (10. att.). Būtiski

atšķīrās 2010. gads ( $p < 0,001$ ), kad puves izplatība pieauga piecas reizes, novembra beigās sasniedzot jau 21%, šajā gadā bija ievērojami vairāk nokrišņu kā citos gados.



10. att. *Coleophoma empetri* izplatība uzglabāšanas laikā (2007.–2012.)  
Fig. 10. Incidence of *Coleophoma empetri* in storage (2007–2012)

Lai arī *C. empetri* izplatība pa gadiem bija atšķirīga, starp audzēšanas reģioniem atšķirības netika novērotas ( $p = 0,707$ ). Tomēr nedaudz lielāka izplatība bija Alsungas un Babītes novada lielogu dzērveņu stādījumos, mazāka — Talsu novada stādījumā (11. att.).



11. att. *Coleophoma empetri* izplatība novembra beigās glabātavā dažādos audzēšanas reģionos Latvijā (2007.–2012.)  
Fig. 11. Incidence of *Coleophoma empetri* at the end of November in storage in different growing regions (2007–2012)

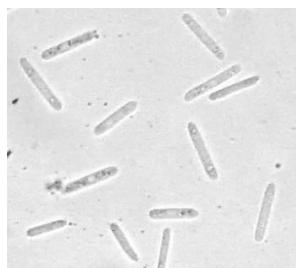
Iespējams, ka sēnes reālā izplatība ir lielāka, jo atsevišķos literatūras avotos norādīts, ka šī sēne var būt endofītiska un saslimšanu izraisa tikai atsevišķos gadījumos (Tadych et al., 2012). *Coleophoma empetri* teleomorfa stadija pasaulē nav novērota.

Tūrkultūrā uz PDA barotnes sēne veidoja zemu, biezus micēlijus, sākumā tas bija gaiši pelēks, vēlāk kļuva tumšāk pelēks līdz pelēkbrūns; kolonijas apmales

līnija bija gan taisna, gan neregulāra (12. att.). Atkarībā no kultūras vecuma, micēlijs mainīja nokrāsu, jo virs tā veidojās gaiši pelēkas līdz baltas micēlijā “salas”. Piknīdas veidojās aplī netālu no ārējās malas vai arī ap puves bojāto ogu. Novērots, ka piknīdas ātrāk veidojās, ja uz barotnes uzsēta inficēta auga daļa, bet, pārsējot tūrkultūrā, piknīdas attīstījās ilgākā laika periodā. Konidijas bija bezkrāsainas, cilindriskas un taisnas,  $3,0 \times 14,8 \mu\text{m}$  ( $2,6\text{--}3,4 \times 12,2\text{--}17,08 \mu\text{m}$ ) lielas (13. att.).



12. att. *Coleophoma empetri* uz PDA barotnes (no virspuses un apakšpuses)  
Fig. 12. *Coleophoma empetri* on PDA (upper and reverse side)



13. att. *Coleophoma empetri* konidijas uz PDA (400  $\times$ )  
Fig. 13. Conidia of *Coleophoma empetri* on PDA (400  $\times$ )

### ***Phyllosticta elongata* bioloģija Latvijā**

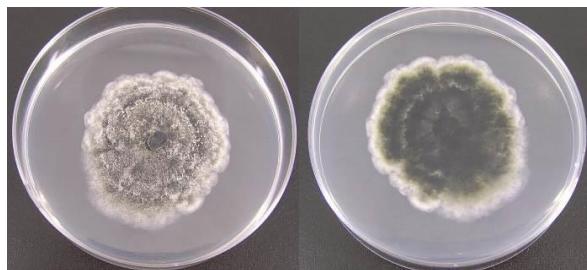
Ražas laikā atsevišķos stādījumos Latvijā, galvenokārt Babītes un Rucavas novadā, uz stingrām ogām novēroti tumši sarkani līdz melni, nelieli plankumi, diametrā 1–2 mm, ko izraisīja *Phyllosticta elongata*. Pirmajos pētījumu gados uzglabāšanas laikā konstatēta arī *P. elongata* ierosinātā ogu puve. Uz stingrām ogām bija nelieli ūdeņaini, nedaudz atkrāsojušies puves plankumi, kuri ar laiku paplašinājās un saplūda kopā, pārņemot visu ogu. Rezultātā ogas kļuva mīkstas un ūdeņainas, līdzīgi kā inficētās ogas ar *F. putrefaciens* un *C. empetri*.

Uzglabāšanas laikā puves izplatībai katru gadu novērota būtiska samazinājās ( $p = 0,002$ ), 2007. gadā novembra beigās vidēji tā sasniedza 2%, bet februāra

beigās 9%. Neliels skaits *P. elongata* bojātu ogu novērojams arī 2009. gada uzglabāšanas laikā, galvenokārt tikai no decembra (1,6%), bet līdz marta beigām puvušo ogu daudzums palielinājās tikai par dažiem procentiem (3,1%). Taču pēc tam sēnes ierosinātā ogu puve glabāšanas laikā netika novērota. 2011. gada februārī viena oga konstatēta Rucavas novadā, bet 2012. gada novembrī Pārgaujas novadā. Kopumā starp reģioniem būtiskas atšķirības netika novērotas ( $p = 0,885$ ).

ASV novērots, ka *P. elongata* ir zema virulence, tāpēc to uzskata vairāk par endofītisku sēni (Tadych et al., 2012). Latvijā nepieciešami pētījumi, lai noskaidrotu sēnes patogenitātes pakāpi. Pagaidām Latvijā asku stadija *Botryosphaeria vaccinii* (Sher) Barr nav konstatēta.

Tīrkultūrā uz PDA barotnes sēnes kolonijas sākumā bija ātri augošas. Micēlijs bija miltains, zilganpelēks un veidoja tumšākus un gaišākus krāsu riņķus. Barotne iekrāsojās tumši pelēkzaļā krāsā (14. att.). Pīknīdas virs micēlija parādījās jau pēc dažām dienām no uzsēšanas brīža. Tās bija apaļas, tumši brūnas līdz melnas (vars micēlija pelēkas), no kurām izplūda gaiši pelēcīga sporu masa.



14. att. *Phyllosticta elongata* uz PDA barotnes (no virspuses un apakšpuses)  
Fig. 14. *Phyllosticta elongata* on PDA (upper and reverse side)

Konīdijas bija bezkrāsainas, vienšūnas, dažādas formas (apaļīgas, bum-bierveida, iegarenas), to sastāvs nedaudz graudains, vidēji  $13,5 \times 5,6 \mu\text{m}$  ( $10,1\text{--}16,4 \times 3,9\text{--}7,3 \mu\text{m}$ ) lielas (15. att.). Konīdijas vienā galā bija novērojams dažāda garuma piedēklis.



15. att. *Phyllosticta elongata* konīdijas uz PDA (400 ×)  
Fig. 15. Conidia of *Phyllosticta elongata* on PDA (400 ×)

## *Physalospora vaccinii* bioloģija Latvijā

*Physalospora vaccinii* ierosina ogu gaišo puvi un Latvijā tā novērota tikai uzglabāšanas laikā. Uz ogām, galvenokārt pie kausiņa bija gaiši sārts, nedaudz iegrīmis, sauss puves plankums, kurš ar laiku sažuva.

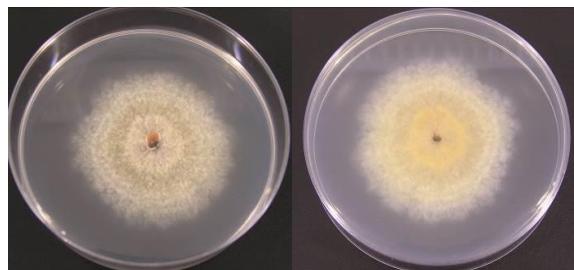
Atmirušajās lielogu dzērveņu lapās 2012. gada rudenī konstatēti *P. vaccinii* peritecīji, kas liecina, ka ražas laikā nobriedušās asku sporas var inficēt ogas. Tātad sēne attīstījās veģetācijas laikā, bet puves bojājumus līdz šim izraisīja tikai uzglabāšanas laikā, lai gan ASV atsevišķos stādījumos ir plaši izplatīts ražas laikā (McManus et al., 2003; Olatinwo et al., 2003).

Uzglabāšanas laikā ogu gaišā puve galvenokārt konstatēta 2007. gadā, kad tā attīstījās jau novembrī un līdz februāra beigām sasniedza 7%, kas bija būtiski ( $p = 0,045$ ) vairāk kā citos gados. 2009. gadā puves izplatība samazinājās vairāk nekā trīs reizes, janvārī un februārī sasniedzot tikai 2%, tāpēc ogas tika turētas vēl mēnesi un izrādījās, ka puves izplatība tomēr pieauga vēl par 1%. Arī nākamajos gados (2010.–2012.) sēnes izplatība turpināja samazināties.

Salīdzinot puves izplatību dažādos audzēšanas reģionos, var secināt, ka lielāka sēnes izplatība novērojama Talsu un Pārgaujas novadā, bet 2009. gadā arī Babītes novadā, tomēr būtiskas atšķirības starp audzēšanas reģioniem netika novērotas ( $p = 0,585$ ).

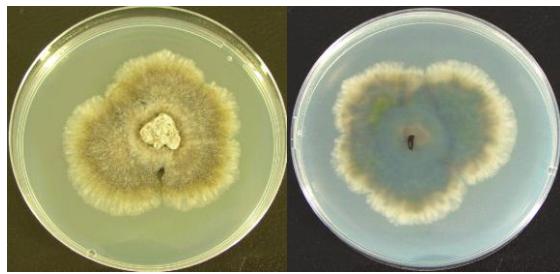
*P. vaccinii* raksturīgi divi celmi. Ziemeļamerikā biežāk izplatīts ir tumšais celms un gaišais attīstās tikai retos gadījumos, bet Latvijā plašāk izplatīts ir gaišais celms.

Tūrkultūrā uz PDA barotnes gaišajam celmam micēlijs bija plāns, zarains, dzeltenīgi balts, barotne krāsojās viegli dzeltenīga (16. att.). Tumšais celms tūrkultūrā tāpat veidoja zemu, plānu un zarainu micēliju, taču tā krāsa bija sūnū zaļganpelēka, pigments Petri trauka apakšā arī bija sūnū zaļgan — pelēkā krāsā (17. att.).



16. att. *Physalospora vaccinii* gaišais celms uz PDA barotnes (no virspuses un apakšpuses)

Fig. 16. White strain of *Physalospora vaccinii* on PDA (upper and reverse side)



17. att. *Physalospora vaccinii* tumšais celms uz PDA barotnes (no virspuses un apakšpuses)

*Fig. 17. Dark strain of Physalospora vaccinii on PDA (upper and reverse side)*

Gan gaišajam, gan tumšajam celmam pēc nedēļas, sēņotnē veidojās pelēkbrūni, apali peritēciji, kuros tikai pēc piecām nedēļām attīstījās aski un parafīzes (18. att.). Ziemeļamerikā novērots, ka gaišajam celmam tūrkultūrā sporulācija notiek retāk (Cranberry diseases, 1995). Latvijā sēnes gaišajam celmam vidēji aski bija  $199,2 \times 42,1 \mu\text{m}$  ( $133\text{--}251 \times 19,6\text{--}64,1 \mu\text{m}$ ) lieli, caurspīdīgi, vārpstveida. Katrā askā astoņas askusporas, vidēji  $43,5 \times 17,4 \mu\text{m}$  ( $33,8\text{--}53,8 \times 12,3\text{--}24,9 \mu\text{m}$ ) lielas, nenobriedušās asku sporas caurspīdīgas, bet gatavās sporas viegli dzeltenbrūnas, necaurspīdīgas, iespējams ar biezu, matētu apvalku. Tumšajam celmam asku sporas bija nedaudz mazākas, plati ovālas ar noapaļotiem galiem, tumšāk brūnas.



18. att. *Physalospora vaccinii* tumšā celma aski, parafīzes un asku sporas uz PDA (400  $\times$ )

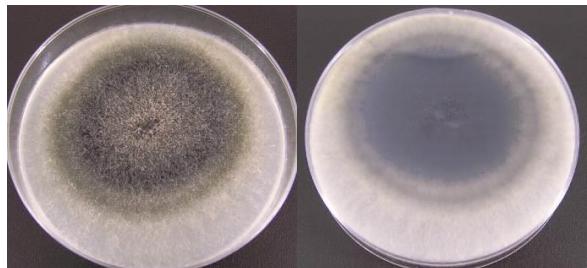
*Fig. 18. Ascii, paraphyses and ascospores of Physalospora vaccinii dark strain on PDA (400  $\times$ )*

### ***Allantophomopsis lycopodina* bioloģija Latvijā**

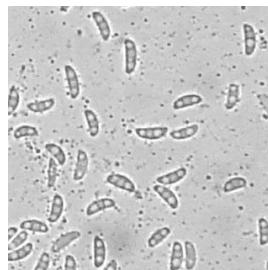
*Allantophomopsis lycopodina* ierosina ogu melno puvi. Puves bojātās ogas kļūst tumši brūnas līdz melnas, stingras, sausas, ar laiku izķūst un sakalst. Ogu melnās puves izplatība ražas laikā un uzglabāšanas laikā bija zema.

Visaugstākā ogu melnās puves izplatība novērota 2007. gada februāra beigās, sasniedzot 1,2%. Turpmākajos gados puves izplatība samazinājās līdz pat 0,2–0,3% februāra beigās ( $p < 0,001$ ). Uzglabāšanas laikā ogu melnā puve galvenokārt bija izplatīta Babītēs novadā, būtiski augstāka izplatība novērota 2007. gadā, februāra beigās sasniedzot 5,5%. Apes novadā augsta puves izplatība novērota 2009. gadā (2,5%), bet pētījuma laikā (2007.–2012.) Rucavas novadā ogu melnā puve netika atrasta, lai gan 2011. gada ražas laikā tā tika konstatēta. Pētījuma laikā būtiskas atšķirības starp audzēšanas reģioniem netika novērotas ( $p = 0,332$ ).

Tīrkultūrā uz PDA barotnes *A. lycopodina* kolonijas ir ātri augošas. Micēlijs plāns, zarains, rets, tumši sūnzaļi pelēkā krāsā. Barotne no apakšas iekrāsojas tumši zaļganpelēkā līdz melnā krāsā (19. att.). Pēc 15 dienām istabas temperatūrā virs micēlija bija attīstījušās nelielas, melnas piknīdas. Nobriedušu piknīdu virsotnēs veidojās melna, glotaina sporu masa. Konidijas atsevišķi bija bezkrāsainas, vidēji  $7,6 \times 2,7 \mu\text{m}$  ( $6,6\text{--}8,6 \times 2,2\text{--}3,8 \mu\text{m}$ ) lielas, eliptiskas, galos nedaudz ieliektais, ar diviem pilieniņiem katrā galā (20. att.).



19. att. *Allantophomopsis lycopodina* uz PDA barotnes (no virspuses un apakšpuses)  
Fig. 19. *Allantophomopsis lycopodina* on PDA (upper and reverse side)



20. att. *Allantophomopsis lycopodina* konidijas uz PDA (400 ×)  
Fig. 20. Conidia of *Allantophomopsis lycopodina* on PDA (400 ×)

## **Uz lielogu dzērvenēm retāk sastopamo sēnu bioloģija Latvijā**

*Botrytis cinerea* tika konstatēts uz lielogu dzērveņu atmirušiem dzinumiem, ziediem, augļaizmetniem un puves bojātām ogām. Puves bojātās ogas bija dzeltenīgas vai dzelteni brūnas, mīkstas. Ogu dzeltenā puve bija sastopama ražas laikā galvenokārt visos apskotajos lielogu dzērveņu stādījumos Latvijā, bet izplatība bija zema. 2011. gadā ražas laikā no 18% puves bojātām ogām tika izdalīts *B. cinerea*, bet 2012. gadā radītie bojājumi sasniedza tikai 7%. Ľoti reti puve novērota arī uzglabāšanas perioda sākumā.

Tūrkulturā uz PDA barotnes *B. cinerea* bija ātri augoša. Sākumā sēnes kolonijas bija baltas, vēlāk tās kļuva tumšākas. Micēlijs — rets, gaiši pelēkbrūns. Pēc 10 dienām tūrkultūrā attīstījās sklerociji. Tiem nobriestot, veidojās konīdijesēji, kuru galos attīstījās ovālas formas zaļgani pelēkas konīdijas. Sporulācija novērota arī mitrajā kamerā uz atmirušajām auga daļām.

*Pestalotia vaccinii* ierosinātā ogu puve novērota galvenokārt ražas laikā, ļoti reti uzglabāšanas perioda sākumā; izplatība zema. Uz ogām puves plankumi bija nedaudz iegrīmuši, kuru centrā ar laiku veidojās tumši koncentriski riņķi. Uzglabāšanas laikā puves bojātās ogas bija dzeltenīgi brūnas. Sēne konstatēta arī atmirušajos dzinumos. Jauno vertikālo dzinumu gali bija nokaltuši, noliekušies, tumši brūni.

Tūrkulturā uz PDA barotnes sēne bija ātri augoša. Micēlijs bija dzeltenīgi balts, centrā košāk dzeltens, augsts, blīvs, no apakšas citrondzeltens. Sēnotnes daļā veidojās apmāļi un pēc divām nedēļām cauri micēlijam spirāles veidā izlauzās melna, ūdeņaina sporu masa. Konīdijas bija iegarenas, vāpstveida, taisnas vai nedaudz ieliektras,  $5,8 \times 27,5 \mu\text{m}$  ( $4,7\text{--}6,8 \times 22\text{--}32 \mu\text{m}$ ) lielas un piecšūnu. Trīs vidējās šūnas bija tumšas, no kurām apakšējā tumšāka par divām pārējām. Sporu galu šūnas bezkrāsainas, ar piedēkļiem. Pie augšējā šūnas (apikālās) izvietoti 3—4 ūsveida piedēkļi, vidēji  $23,9 \mu\text{m}$  ( $16\text{--}33 \mu\text{m}$ ) gari. Savukārt pie apakšējās (bazālās) bija tikai viens piedēklis, vidēji  $13,7 \mu\text{m}$  ( $9,5\text{--}18 \mu\text{m}$ ) garš. Tūrkulturā attīstījās arī mikrokonīdijas, kuras bija bezkrāsainas, eliptiskas, nedaudz ieliektras,  $2,0 \times 6,3 \mu\text{m}$  ( $1,3\text{--}2,7 \times 4,5\text{--}7,8 \mu\text{m}$ ) lielas. Sporulācija novērota arī mitrajā kamerā uz atmirušajām auga daļām.

*Discosia artocreas* tika izolēta no atmirušiem dzinumiem un augļaizmetniem. Bojātie dzinumi un augļaizmetni bija bronzas brūni. Ražas laikā novērotas dažas dzeltenīgi brūnas puves bojātas ogas.

Tūrkulturā uz PDA barotnes micēlijs bija ātri augošs, zems, rets, gaisīgs, gaiši pelēks, virs barotnes veidoja plānu ādveida kārtīnu, no apakšas — tumši pelēks. Gan mitrajā kamerā uz atmirušiem dzinumiem, gan tūrkultūrā attīstījās tumši pelēkbrūnas un bumbierveida piknīdas, no kurām izlauzās dzeltenīgi balta, krēmveida sporu masa. Atsevišķi konīdijas bija bezkrāsainas vai nedaudz pelēcīgi zaļas ar trīs šķērssienām, iegarenas, šauras, gali noapaļoti, kuru galos ārpusē bija nelieli, iegareni piedēkļi. Konīdijas bija  $3,2 \times 14,2 \mu\text{m}$  ( $2\text{--}4 \times 12\text{--}17 \mu\text{m}$ ) lielas.

Zinātniskajos rakstos ir maz informācijas par šīs sēnes izraisītiem bojājumiem lielogu dzērvenēm, tomēr ir pieminēts, ka sēne izolēta no puves bojātām

lielogu dzērveņu ogām, bet nav skaidrs, vai tā ir patogēna lielogu dzērvenēm (Olatinwo et al., 2003), jo vairākās valstīs Eiropā sēne aprakstīta kā sekundārais parazīts uz kokaugu sugām (Wolczanska et al., 2004; Vanev, 1996).

## ***Diaporthe vaccinii* bioloģija Latvijā**

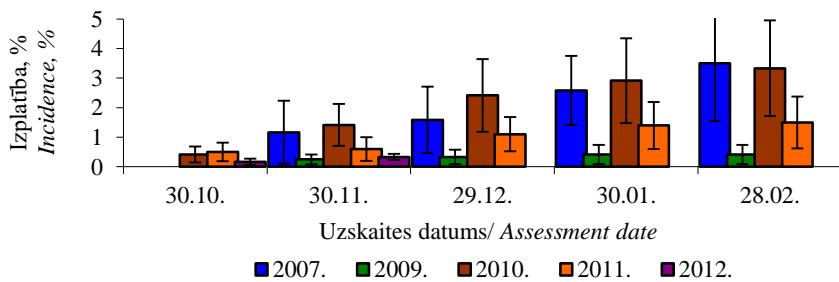
*Diaporthe vaccinii* (anamorfā stadijā *Phomopsis vaccinii*) Latvijā lielogu dzērvenēm pavasarī ierosina vertikālo dzinumu atmiršanu, ziedēšanas laikā — ziedu un augļaizmetņu atmiršanu. Rudenī ražas laikā ierosina viskozo ogu puvi, kura turpina attīstīties arī vēlāk, izraisot ražas zudumus uzglabāšanas laikā. Puves bojātās ogas bija plankumaini brūnas, atkrāsojušās un nedaudz lāsumainas, mīkstas, to saturis viskozs.

Latvijā atrasta tikai sēnes anamorfā stadija, arī Ziemeļamerikā novērots, ka asku stadija dabā veidojas ļoti reti<sup>3</sup>. Sēne iekļauta EPPO A2/211 sarakstā kā karantīnas organisms (*Diaporthe vaccinii*, 2009), kurš Eiropā konstatēts vairākās valstīs uz dažādiem ēriku dzimtas augiem. Pagaidām tā izplatība tiek kontrolēta, lai gan Ziemeļamerikā ir atzīts, ka sēnes ierobežošana ir problemātiska.

Pētījuma laikā *D. vaccinii* izplatība Latvijā bija zema un pagaidām būtiski ražas zudumi netika novēroti, tomēr sēne atrasta piecos no sešiem apsekotajiem lielogu dzērveņu stādījumiem Latvijā. *D. vaccinii* netika konstatēts Talsu novadā.

Ražas laikā 2011. un 2012. gadā atmirušo augļaizmetņu un puvušo ogu daudzums bija neliels, tomēr no ievāktām puves bojātām ogām 6–59% ogu atrasts *D. vaccinii*.

Uzglabāšanas laikā sēne konstatēta jau no oktobra līdz februāra beigām (21. att.). Līdz februāra beigām puvušo ogu daudzums 2007. un 2010. gadā sasniedza 3,3–3,5%, nedaudz mazāk viskozā ogu puve konstatēta 2011. gadā, bet būtiski mazāk tā bija 2009. un 2012. gadā ( $p = 0,010$ ). Galvenokārt viskozā ogu puve konstatēta Babītes un Rucavas novadā.



21. att. *Diaporthe vaccinii* izplatība uzglabāšanas laikā (2007.–2012.)  
Fig. 21. Incidence of *Diaporthe vaccinii* in storage (2007–2012)

<sup>3</sup> Caruso F. L (2012) Cottonball, diebacks and other diseases likely to be encountered. [tiešsaiste] [skatīts 10.01.2013.]. Pieejams: [http://www.atlanticcranberry.ca/PDF/Frank\\_L\\_Caruso\\_E.pdf](http://www.atlanticcranberry.ca/PDF/Frank_L_Caruso_E.pdf)

## *Diaporthe vaccinii* morfoloģiskās īpatnības Latvijā

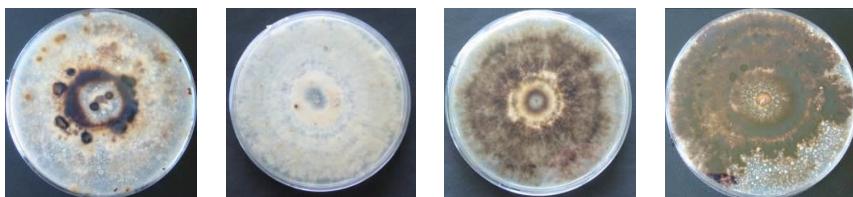
Pētījuma laikā novērots, ka *Diaporthe vaccinii* izolātu morfoloģiskās īpatnības ir atšķirīgas, tāpēc sarežģīti identificējama. Iegūtie izolāti grupēti pēc līdzīgām pazīmēm un meklētas korelācijas starp atsevišķām pazīmēm.

Sēne tūrkultūrā uz PDA barones ir ātri augoša sēne. Pēc četrām dienām istabas temperatūrā *D. vaccinii* kolonijām novērojams vislielākais pieaugums, sa-sniedzot diametrā vidēji 3 cm (1,8–4,2 cm). Astotajā dienā vairākiem izolātiem augšana bija apstājusies.

Pirmajās dienās *D. vaccinii* izolātiem micēlijs bija balts, pēc mēneša varēja novērot krāsu izmaiņas, kad 84% izolātu micēlijs bija pelēkbalts, bet pārējiem — pelēkbrūns. Jau pirmajās dienās bija novērojama atšķirīga micēlija struktūra: ļoti blīvs un paaugstināts, kolonijas mala līdzzena; ļoti rets, zems, plūksnains, saskatāms zarojums. Daļai izolātu koloniju mala bija līdzzena, bet dažiem tā bija robota. Vēlāk apmales līnija izlīdzinājās arī pārējiem izolātiem.

Viena no patogēna raksturīgākām pazīmēm ir micēlija īpatnējā faktūra. Visbiežāk bija novērojams viens, retāk vairāki ļoti blīvi, nedaudz paaugstināti līdz 5 mm augsti micēlija valņi (zonējumi). Pēc mēneša 89% izolātiem kolonijas centrā bija izveidojies paaugstināts valnis.

Mēnesi pēc uzsēšanas visi izolāti sagrupēti četrās grupās atkarībā no barotnes krāsošanās: 39% izolātu centrs bija tumši brūns, bet tālāk līdz plates malai krēmbalts; 34% izolātu veidoja vienmērīgi krēmbaltu nokrāsu; 18% — tumši brūnu; 9% — tumši pelēku (22. att.).



22. att. *Diaporthe vaccinii* dažadu izolātu barotnes krāsošanās mēnesi pēc uzsēšanas uz PDA

Fig. 22. Reverse pigmentation of *Diaporthe vaccinii* isolates after month on PDA

Piknīdas bija tumšas, sfēriskas, nedaudz iegremdētas micēlijā. Istabas temperatūrā pirmās piknīdas virs micēlija novērotas septītajā, astotajā dienā pēc uzsēšanas, tomēr 45% izolātu piknīdas izveidojās pēc astoņām dienām. Mēnesi pēc uzsēšanas piknīdu skaits un lielums izolātiem bija atšķirīgs: 39% izolātu kolonijas bija izveidojušas līdz 10 piknīdām, bet vairumam (62%) tās bija vairāk par 10. Maz piknīdu novērotas izolātiem ar pelēkbaltu micēliju. Starp piknīdu pazīmēm sakarības netika novērotas. Tomēr Pīrsona korelācijas analīze uzrādīja vāju sakarību ( $r = -0,308$ ,  $p = 0,042$ ; 1. tabula) starp piknīdu skaitu un to parādīšanās laiku. Galvenokārt piknīdas bija izveidojušās septītajā un astotajā dienā.

**Sakarības starp *Diaporthe vaccinii* piknīdu raksturojumiem tīrkultūrā uz PDA barotnes**

**Relevances between pycnidia features of *Diaporthe vaccinii* in culture on PDA**

<i>Kritēriji / Criteria</i>		<i>Laiks / Time</i>	<i>Vieta (valnis) / Place (zonate)</i>	<i>Skaits / Number</i>	<i>Izmērs / Size</i>
<i>Laiks / Time</i>	r=	1	0,068	<b>-0,308</b>	0,162
	p=	—	0,660	<b>0,042</b>	0,294
	N=	44	44	44	44
<i>Vieta (valnis) / Place (zonate)</i>	r=	0,068	1	0,27	-0,246
	p=	0,660	—	0,076	0,107
	N	44	44	44	44
<i>Skaits / Number</i>	r=	<b>-0,308</b>	0,27	1	-0,065
	p=	<b>0,042</b>	0,076	—	0,677
	N	44	44	44	44
<i>Izmērs / Size</i>	r=	0,162	-0,246	-0,065	1
	p=	0,294	0,107	0,677	—
		44	44	44	44

\* Pīrsona korelācija ir būtiska pie 0,05 ticamības līmenē

\* Pearson Correlation is significant at 0,05 confidence level

Lai arī vairumam izolātu micēlijs veidoja valni, tomēr ne vienmēr uz tā attīstījās piknīdas. Tikai daļai izolātu piknīdas bija uz valņa (23. att.), bet lielākai daļai izolātu (61%) piknīdas bija izveidojušās izkliedus — pa visu Petri trauku (24. att.). Atrastas arī statistiski nozīmīgas sakarības starp koloniju augšanas ātrumu, piknīdu izvietojumu un micēlija valni. Kolonijām, kurām augšanas ātrums bija mazs (7. dienā diametrs sasniedza tikai 3,0–3,3 cm), piknīdas bija novietojušās izkliedus ( $r = -350$ ;  $p = 0,020$ ). Savukārt izolātiem, kuriem kolonijas bija ātri augošas (7. dienā diametrs sasniedza 5,0–6,2 cm) micēlijs biežāk veidoja valni ( $r = -314$ ;  $p = 0,038$ ).



23. att. *Diaporthe vaccinii* piknīdas uz valņa tīrkultūrā (uz PDA)

Fig. 23. *Diaporthe vaccinii* pycnidia on zonate on PDA



24. att. *Diaporthe vaccinii* piknīdas izvietotas izkliedus (uz PDA)

Fig. 24. Scattered pycnidia of *Diaporthe vaccinii* on PDA

Piknīdās attīstījās krēmkrāsas sporu masa. *Diaporthe* ģints sēnēm ir raksturīgi veidot *alfa* un *beta* konīdijas (25. att.). Pēdējos gados zinātnieki atzīst, ka *beta* konīdijas var arī nebūt (Farr, et al., 2002; Kačergius et al., 2004b; *Diaporthe vaccinii*, 2009).



25. att. *Diaporthe vaccinii alfa* un *beta* konīdijas uz PDA (400 ×)  
Fig. 25. Alpha and beta conidia of *Diaporthe vaccinii* on PDA (400 ×)

*Alfa* konīdijas bija iegareni ovālas ar noapaļotiem galiem, kuras saturēja katrā galā pa eļļas lodītei. Lielākai daļai izolātu varēja novērot arī garākas un smailākas (adatveida) konīdijas. Vidēji *alfa* konīdijas ( $n = 2537$ ) bija  $7,39 \mu\text{m}$  ( $5,02\text{--}10,99 \mu\text{m}$ ) garas un  $2,76 \mu\text{m}$  ( $1,49\text{--}4,40 \mu\text{m}$ ) platas.

Tikai diviem izolātiem varēja novērot arī *beta* konīdijas, kas ir viena no *Diaporthe* ģints raksturīgākām pazīmēm, tomēr to skaits bija neliels. *Beta* konīdijas bija smailas, nedaudz ieliektais; izolātam no Apes bija būtiski ( $p < 0,001$ ) garākas  $23,7 \mu\text{m}$  ( $\pm 1,55 \mu\text{m}$ ) sporas nekā izolātam no Rucavas, kas bija  $15,3 \mu\text{m}$  ( $\pm 2,62 \mu\text{m}$ ). Savukārt sporu platumis būtiski ( $p = 0,044$ ) lielāks konstatēts izolātam no Rucavas novada, kas vidēji bija  $1,6 \mu\text{m}$  ( $\pm 0,19 \mu\text{m}$ ), bet izolātam no Apes novada —  $1,5 \mu\text{m}$  ( $\pm 0,11 \mu\text{m}$ ).

Rezultātā gandrīz katrs izolāts morfoloģiski bija atšķirīgs, tāpēc kopumā grūti raksturot *D. vaccinii* raksturīgās iezīmes tūrkultūrā, jo tikpat līdzīgas pazīmes var būt arī citai *Diaporthe* ģints sēnei, tāpēc ļoti nozīmīgi ir ģenētisko analīžu rezultāti. Balstoties uz izolātu ribosomālās DNS (rDNS) ITS1-5.8S-ITS2 reģiona sekvenču analīzi un līdzību ar sekvencēm datubāzē, no dzērvenēm izdalītie un morfoloģiski raksturotie izolāti atbilda *D. vaccinii*. Analizētie izolāti pēc filoģenētiskās analīzes atbilda (99–100%) arī izolātiem no Lietuvas, ASV (Masačūsetsa, Mena, Viskonsīna, Nūdžersija) un Lielbritānijas, līdz ar to, salīdzinot lielogu dzērveņu stādmateriālu izcelsmes vietu ar *D. vaccinii* izolātu sekvenču izcelsmi, iespējams, ka patogēns Latvijā ievests ar stādāmo materiālu.

Pētījuma laikā pierādīts, ka no lielogu dzērvenēm izolētais *D. vaccinii* izraisa saslimšanu lielogu dzērveņu ogam un dzinumiem. Pētījuma rezultāti pierāda, ka sēne galvenokārt inficēja ogas, ja pirms tam ir bijis ievainojums, bet inficēšanās iespējama arī caur nebojātu mizu. Savukārt inficētiem dzinumiem šādas iezīmes netika novērotas, inficēšanās bija augstāka nebojātiem dzinumiem. Iespējams, jauniem dzinumiem audi vēl ir jauni un patogēnam ir vieglāk iekļūt, salīdzinot ar

ogu audiem, kur ogu virskārtu klāj vaska kārtiņa. Iespējams, patogēns ir bīstamāks dzinumiem nekā ogām, ja ogas ražas laikā netiek mehāniski ievainotas. Šāda veida pētījumus būtu nepieciešams atkārtot, lai precīzāk varētu izanalizēt *D. vaccinii* bīstamību *Vaccinium* ģints kultūraugiem un arī savvaļas augiem.

## SECINĀJUMI

1. Lielogu dzērvenēm ogu bojājumus Latvijā izraisīja deviņas sēnes: *Fusicoccum putrefaciens* Shear (teleomorfajā stadijā *Godronia cassandrae* Peck f. *vaccinii* Groves), *Coleophoma empetri* (Rostr.) Petr., *Diaporthe vaccinii* Shear in Shear, N. Stevens, & H. Bain (anamorfajā stadijā *Phomopsis vaccinii* Shear in Shear, N. Stevens, & H. Bain),, *Physalospora vaccinii* (Shear) Arx & E. Müller, *Phyllosticta elongata*G. J. Weidemann in G. J. Weidemann, D. M. Boone, & Burdsall (teleomorfajā stadijā *Botryosphaeria vaccinii* (Sher) Barr), *Allantophomopsis lycopodina* (Hohn.) Carris, *Botrytis cinerea* Pers.: Fr., *Discosia artocreas* (Tode) Fr., *Pestalotia vaccinii* (Shear) Guba.
2. Latvijā lielogu dzērvenēm saimnieciski nozīmīgus ražas zudumus uz lauka un uzglabāšanas laikā izraisīja *Fusicoccum putrefaciens* un *Coleophoma empetri*.
3. Ražas laikā ogu puves izplatība lielogu dzērveņu stādījumos Latvijā bija tikai 1,9% līdz 2,4%, kas ir ievērojami mazāk kā Ziemeļamerikā.
4. Latvijā lielogu dzērvenes svāigā veidā glabātavās (5–7 °C) var uzglabāt divus mēnešus, jo līdz novembra beigām vidēji bija bojātas 11–35% ogu, bet decembra beigās jau 66%.
5. Karantīnas organismi *Diaporthe vaccinii* konstatēts piecās no sešiem apseko-tajiem lielogu dzērveņu stādījumiem Latvijā.
6. *Diaporthe vaccinii* izplatība lielogu dzērveņu stādījumos Latvijā bija zema, tomēr šis patogēns izraisīja dzinumu un auglaizmetņu atmiršanu, ogu puvi uz lauka un uzglabāšanas laikā.
7. *Diaporthe vaccinii* tūrkultūrā micēlija krāsa bija atšķirīga – sākot no pelēkbaltas līdz pelēkbrūnai; kolonijas centrā veidojās vai neveidojās paaugstināts valnis; barotne iekrāsojās krēmbaltā, tumši brūnā, tumši pelēkā krāsā vai arī tumši brūns bija tikai centrs, malas krēmbaltas; piknīdas parādījās sākot no 7 dienām līdz mēnesi pēc uzsēšanas, attīstoties gan uz valņa, gan izklaidus; piknīdu skaits un izmērs izolātiem bija atšķirīgs.
8. *Diaporthe vaccinii* izolāti bija morfoloģiski atšķirīgi, tomēr rDNS ITS1-5.8S-ITS2 reģiona sekvences pierādīja, ka tie atbilst *D. vaccinii*. Filogenētiskās analīzes norādīja, ka *D. vaccinii* Latvijā, iespējams, ievests ar stādāmo materiālu no Ziemeļamerikas.
9. Inokulējot lielogu dzērvenes ar *Diaporthe vaccinii*, inficējās gan ogas, gan dzinumi, īsāks inkubācijas periods bija gadījumos, kad audi bija bojāti, tomēr inficēšanās iespējama arī caur nebojātiem audiem.

# ZINĀTNISKĀ DARBA APROBĀCIJA

## APPROBATION OF THE SCIENTIFIC PAPER

### Grāmatas / Books

1. Vilka L. (2012) Lielogu dzērveņu slimības un to ierobežošana. No: *Lielogu dzērveņu audzēšana*. M., Āboļiņa red. Apgāds Zvaigzne ABC, 66.–70. lpp.

### Raksti, kas indeksēti WoS un / vai SCOPUS / Articles indexed in WoS and/or SCOPUS

1. Vilka L., Bankina B. (2013) Incidence of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) storage rot in Latvia. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences (Latvijas Zinātņu Akadēmijas Vēstis)*, Section B: Natural exact, and applied sciences, ISSN 1407-009X, Vol. 67 (2), p. 179–183.
2. Vilka L., Bankina B. (2012) Incidence of Postharvest Rot of Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) in Latvia. „*Research for Rural Development 2012*”, p. 67–71.

### Recenzēti zinātniskie raksti / Peer-reviewed articles

1. Vilka L., Volkova J. (2015) Morphological Diversity of *Phomopsis vaccinii* Isolates from Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) in Latvia. *Proceedings of Latvia University of Agriculture (LLU Raksti)*, 33 (328), p. 8–18.
2. Vilka L., Rancane R., Eihe M. (2009) Fungal diseases of *Vaccinium macrocarpon* in Latvia. *Latvian Journal of Agronomy (Agronomijas Vēstis)*, 12, p. 125–133.
3. Vilka, L., Rancane, R., Eihe, M. (2009) Storage rots of *Vaccinium macrocarpon* in Latvia. *Latvian Journal of Agronomy (Agronomijas Vēstis)*, 12, p. 133–137.
4. Jankovska L., Eihe M., Bankina B. (2008) Lielogu dzērveņu ogu puves Latvijā. *Agronomijas vēstis*, 10, 218.–222. lpp.
5. Vilka L, Eihe M., Rancāne R. (2007) The Most Important Diseases of Cranberry and the Measures for their Control in Latvia. *The Scientific Journal for Faculty of Horticulture and Landscape Engineering of Slovak. Agricultural University: Acta horticulturae et regiotecturae*, 10, p. 31–33.

### Citi zinātniskie raksti / Other scientific articles

1. Vilka L., Bankina B (2013) Lielogu dzērveņu (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) bojāto auga daļu nozīme slimību izplatībā stādījumos Latvijā. Ražas svētki “Vecauce-2013”: Lauksaimniecības augstākajai izglītībai Latvijā — 150. *Zinātniskā semināra rakstu krājums*. 57.–60. lpp.
2. Vilka L., Bankina B. (2012) Nozīmīgāko lielogu dzērveņu (*Vaccinium macrocarpon*) ogu puves ierosinātāju izplatība glabātavā, Latvijā. Ražas svētki “Vecauce-2012”: Studijas-Zinātne-Prakse. *Zinātniskā semināra rakstu krājums*, 68.–71. lpp.

3. Vilka L., Bankina B. (2011) Lielogu dzērveņu (*Vaccinium macrocarpon*) ogu puves izplatība ražas laikā un glabātavās dažādos Latvijas reģionos. Ražas svētki "Vecauce-2011": LLU mācību un pētījumu saimniecībai Vecauce-90. *Zinātniskā semināra rakstu krājums*, 66.–69. lpp.
4. Vilka L., Bankina B. (2009) Lielogu dzērveņu (*Vaccinium macrocarpon*) slimības Latvijā. Ražas svētki „Vecauce-2009”, Latvijas Lauksaimniecības universitātei — 70, *Zinātniskā semināra rakstu krājums*, 61.–64. lpp.

#### **Konferenču tēžu materiāli / Abstracts**

1. Vilka L., Volkova J., Eihe M. (2012) The most harmful pathogens of cranberry and blueberry in Latvia. Abstract. *IOBC/wprs Bulletin*, 74, p. 202.
2. Vilka L., Bankina B. (2012) Incidence of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) storage rot in Latvia. 2nd International Scientific Conference: Sustainable Fruit Growing: From Plant to Product. *Book of abstracts and scientific program*, p. 81.
3. Vilka L., Rancāne R., Eihe M. (2009) Fungal diseases of *Vaccinium macrocarpon* in Latvia. *International scientific conference „Vaccinium spp. and less known small fruit: challenges and risks”*, p. 14.
4. Vilka L., Rancāne R., Eihe M. (2009) Storage rots of *Vaccinium macrocarpon* spread and development in Latvia. *International scientific conference „Vaccinium spp. and less known small fruit: challenges and risks”*, p. 15.

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

1. Vilka L. (2012) Vai lielogu dzērvenes var izaudzēt bez fungicīdiem? *Dārzs un Drava*, Nr. 7/8, 64.–65. lpp.
2. Vilka L., Eihe M. (2008) Veselīgā oga slimību pati! *Dārzs un Drava*, Nr. 4, 39.–41. lpp.
3. Vilka L., Eihe M. (2008) Lielogu dzērveņu slimības Latvijā. *Agro Tops*, Nr. 6, 37.–39. lpp.

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

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

1. Vilka L., Bankina B. (2012) Incidence of Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) Storage Rot in Latvia. 2<sup>nd</sup> International Scientific Conference: Sustainable Fruit Growing: From Plant to Product. 22.08.–24.08, Rīga-Dobele
2. Vilka L. (2012) Incidence of Postharvest Rot of Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) in Latvia. LLU organizētā starptautiskā zinātniskā konference „Research for Rural Development 2012”, 16.05.–19.05., Jelgava
3. Vilka L. (2009) Fungal diseases of *Vaccinium macrocarpon* in Latvia and storage rots of *Vaccinium macrocarpon* spread and development in Latvia. International scientific conference „Vaccinium spp. and less known small fruit: challenges and risks”, 07.–08.10. Jelgava
4. Vilka L., Rancane R. (2008) Fungal diseases of the cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) in Latvia. International scientific conference „XVII Symposium

of the Baltic Mycologists and Lichenologists". September 17 – 21, Mandjala, Saaremaa, Estonia

5. Vilka L., Eihe M., Rancāne R. (2007) The Most Important Diseases of Cranberry and the Measures for their Control in Latvia. International scientific conference „*Vaccinium* spp. and Less Known Small Fruits: Cultivation and health benefit”, 30. septembris–5. oktobris, Nitra, Slovākija

### Konferences Latvijā / Conferences in Latvia

1. Vilka L., Bankina B (2013) Lielogu dzērveņu (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) bojāto auga daļu nozīme slimību izplatībā stādījumos Latvijā. Zinātniskais seminārs: Ražas svētki “Vecauce-2013”: Lauksaimniecības augstākajai izglītībai Latvijā — 150. 7. novembris, Vecauce
2. Vilka L., Bankina B. (2012) Nozīmīgāko lielogu dzērveņu (*Vaccinium macrocarpon*) ogu puves ierosinātāju izplatība glabātavā, *Latvijā*. Zinātniskais seminārs: Ražas svētki „Vecauce-2012”: Studijas-Zinātne-Prakse, 1. novembris, Vecauce.
3. Vilka L., Bankina B. (2011) Lielogu dzērveņu (*Vaccinium macrocarpon*) ogu puves izplatība ražas laikā un glabātavās dažādos Latvijas reģionos. Zinātniskais seminārs: Ražas svētki „Vecauce-2011”, „Vecauce-90”, 3. novembris, 2011., Vecauce
4. Vilka L. (2009) Lielogu dzērveņu (*Vaccinium macrocarpon*) slimības Latvijā. Zinātniskais seminārs: Ražas svētki “Vecauce 2009”, 5. novembrī, 2009. Vecauce

## INTRODUCTION

The American cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) is an evergreen dwarf shrub of the family *Ericaceae*, which was introduced from the bogs of the north east of the United States. Berries are valuable, therefore are well demanded in Europe, but mainly grown in North America. The commercial plantations of American cranberries are established in Latvia and Belarus from the European countries. The conditions are appropriate for growing of American cranberry in Latvia and berries are suitable for exporting. In order to achieve a successful cranberry production and to improve yield and quality, extensive research and a good understanding of diseases is necessary. The total area of plantations for American cranberries exceeded 100 ha in Latvia, but investigations of diseases and their causal agents started since 2006.

In North America, losses caused by diseases have an important economic impact in cranberry plantations; if not used fungicides. The incidence of field rot can reach even 100%. The 32 causal agents of fruit rot are known in North America, but most of them cause upright, flowers and ovaries dieback. There are diverse opinions about pathogenicity of fungi, because fungi are defined as endophyte or saprophyte in different studies. At the same time the relationships between fungi and cranberries are changing. For example, *Diaporthe vaccinii* caused minor losses before, but in recently years *D. vaccinii* is defined as harmful pathogen not only for cranberry, but also for other *Vaccinium* species in North America.

The investigations are necessary in Latvia to identify casual agents of fruit rot. Additionally it is important to understand their biology in order to use rational controlling of diseases in the coming years.

In the literature, there is an inconsistent use of terms for casual agents, there is no consensus of which one is the dominant term. In this thesis names of pathogen dominant stage were used, which correspond to the terms in *Index Fungorum* and *Mycobank* databases.

**The hypothesis of this study:** serious yield lossess of American cranberry in Latvia reduced fruit rot caused by *Fusicoccum putrefaciens* and *Diaporthe vaccinii* at harvest and in storage.

**The aim of the study:** to investigate the fruit rot of American cranberry in Latvia and describe their causal agents.

### **The tasks of the study:**

1. to detect the incidence of fruit rot at harvest and in storage;
2. identify and characterize the causal agents of fruit rot;
3. characterise the morphological peculiarities of *Diaporthe vaccinii* in pure culture;
4. describe the peculiarities of infection by *Diaporthe vaccinii* in cranberry.

**The novelty of the research:**

- for the first time in Latvia nine causal agents from American cranberry were identified and characterized: *Fusicoccum putrefaciens*, *Coleophoma empetri*, *Diaporthe vaccinii*, *Physalospora vaccinii*, *Phyllosticta elongata*, *Allantophomopsis lycopodina*, *Botrytis cinerea*, *Discosia artocreas*, *Pestalotia vaccinii*.

- morphological peculiarities for quarantine organism *Diaporthe vaccinii* on PDA have been described, observed peculiarities on infected berries and uprights.

**Thesis to be defended:**

- the rapid development of American cranberry fruit rot began two months after harvest in Latvia;

- cranberry fruit rot can be caused by several species of pathogenic fungi, complex infection can occur as well as;

- the colony of *Diaporthe vaccinii* produce diverse range of morphological features in pure culture.

The research results have been collected and reflected in one book chapter, 11 publications in the Latvian and English languages, including reviewed international publications at international conferences. Research results have been presented in three oral and six poster presentations.

The research has been carried out with funding from the Ministry of Agriculture in three projects.

## MATERIALS AND METHODS

**Trial place.** The observations were carried out in (2007, 2009–2012). Six cranberry plantations from different locations (Talsi, Babīte, Alsunga, Rucava, Ape and Pārgauja municipality) in Latvia were inspected at harvest. Plantations were arranged after peat extraction 1990–1998: “Purva dzērvenīte” in Rucava municipality; “Stīgas” in Alsunga municipality, “Lienama-Alūksne” in Ape municipality, “Piesaule” in Talsi municipality and A. Priedītis plantation in Pārgaujas municipality, the youngest plantation is arranged in artificial peat bog (1.5-m layer of sawdust, 30-cm upper layer of peat) in Babīte municipality “Strēlnieki”, 2002.

The samples were taken from cultivar ‘Stevens’ (‘Mc Farlin’ × ‘Potters’).

**The collection of samples.** Berries were collected at harvest depending on the ripening time at harvest (on the 13th of October 2007 ( $\pm 4$  days); on the 23rd of October 2009 ( $\pm 4$  days); on the 7th of October 2010 ( $\pm 3$  days); on the 4th of October 2011 ( $\pm 2$  days); on the 5th of October 2012 ( $\pm 5$  days)). Visual symptoms of rotted berries were described and causal agents detected in the laboratory.

**Processing of samples in the laboratory.** Collected berries were dried in a laboratory and 100 sound berries in two replicates (total of 200) from each growing place. Berries were kept in plastic bags (PE-LD04) for four months and refrigerated at 5–7 °C with a relative humidity (RH) of 83%  $\pm 2$ . At the end of each month until February, berries were sorted and rotten berries were separated from the sound ones. The rotten berries were kept and used for identification of the causal agent of the storage rot and for further investigations.

Assessments were carried out every five days until the 30th of November 2012 for better detection of incidence of storage rot.

All rotten berries (approximately a total of 5000 berries) were put down on potato-dextrose agar (PDA) for detection the causal agent. Colonies were incubated at 20–22 °C for 3 to 4 weeks and color and texture of surface mycelium; peculiarities of colony, reverse pigmentation (color), features of conidia were described and measured. Causal agents were identified directly from the isolated colonies by comparing morphological characteristics of fungi with descriptions in the literature.

The microscopic assessment was done with an Olympus BX51 microscope. Photos were taken with a Sony DSC-H7 digital camera. All the published pictures are original.

**Morphological characteristics of *Diaporthe vaccinii*.** To examine the colony morphology 44 isolates of *P. vaccinii* were selected from viscid rot at harvest 2010 in five cranberry growing areas: 22 isolates from Babīte municipality; 12 isolates from Rucava municipality, 7 isolates from Alsunga municipality, 2 isolates from Ape and 1 isolate from Pārgauja municipality. Samples were cultivated on Potato Dextrose Agar (PDA) in two replicates. Cultures were incubated at 23 °C in the dark for one month.

During this study, colony morphology was described for all 44 isolates of *D. vaccinii*. The isolates were divided in different groups to detect relationship

between the samples. Isolates were divided into the following groups: mycelium colour and structure (zonate), reverse pigmentation, pycnidia formation time, size, location, number and conidia size. Conidia was described from 26 isolates, length and width of 100 conidia per each isolate were measured ( $\mu\text{m}$ ;  $n = 100$ ).

The 15 isolates from 44 isolates of *Diaporthe vaccinii* were selected for taxonomical identity and confirmed using rDNA ITS1-5.8S-ITS2 region analysis. DNA extracted by NucleoSpin Plant II commercial Kit, according to the instructions. The universal primers of ITS1F and ITS4 were used for polymerase chain reaction (PCR). Purified PCR products were sequenced at Macrogen Europe (Amsterdam, Netherlands). Obtained sequences were compared to the sequences of *D. vaccinii* and closely related taxa available in the data base of NCBI GenBank, the phylogenetic analysis by the MEGA 5.1. also were performed. Sequences were deposited at NCBI GenBank and are accessible by ID KP869876–KP869890.

The peculiarities of infection by *D. vaccinii* in cranberry were investigated in Latvia's conditions. For investigations 50 sound berries ( $10 \times 5$  replicates) were inoculated by *D. vaccinii* spore suspension ( $1 \text{ ml} = 3.7 \times 10^5$  conidia) —  $0.02 \text{ ml}$  suspension was injected and put on cranberries. Distilled water was injected and put on 50 berries for comparison with the infected berries. American cranberry stems were also inoculated by *D. vaccinii* spore suspension ( $1 \text{ ml} = 3.5 \times 10^5$ ) injected ( $n = 15$ ) and put on ( $n = 15$ ) stems. Also stems were infected by one week old mycelium of *D. vaccinii*. Pieces of mycelium were fixed with parafilm on intact ( $n = 15$ ) and damaged ( $n = 15$ ) stems. Distilled water was injected and put on stems for comparison.

**Mathematical data analyses.** Obtained data was processed using non-parametric calculation models, the proportion of characteristics ( $W$  — incidence) and standard error where calculated, compared the differences between the two signs of the relative frequency (Gosa, 2003). The results of the investigations were applied using analysis of variance by ANOVA in MS Excel and computer program SPSS 17.0 statistics package. The obtained data were analysed with descriptive statistics method with significance ( $p < 0.05$ ) of the differences between the samples (Arhipova un Bāliņa, 2003). The differences between isolates of *D. vaccinii* were analysed using *Descriptives statistics* — *Frequencies* and relationships between morphological characteristics of *D. vaccinii*, who were expressed in points before analysing by Pearson correlation ( $p < 0.05$ ;  $p < 0.001$ ). Infection rate of the fruit rot was calculated by formula (1). Infection rate describes the speed of changes of disease development in time depending on different factors, in this case – period of storage. Infection rate was expressed by condition units of disease units per periods of time or all period of disease progress (Krantz, 2003).

$$r_1 = \frac{\ln(x_2) - \ln(x_1)}{t_2 - t_1} , \quad (1)$$

$r_1$  – rate of infection;

$x_2$  – number of rotted fruit in next time of assessment;

$x_1$  – number of rotted fruit in previous time of assessment;

$t_2 - t_1$  – number of days between assessments;

$\ln$  – logarithm.

**Meteorological conditions.** The meteorological conditions were analysed basing on the information available at the website of Latvian Environment, Geology and Meteorology Centre (<http://www.meteo.lv>). Compared the annual variations of precipitation characteristics from the norm since 2000, the amount of precipitation is significantly increased above norm from 2007 in Latvia, especially in 2010, but closer to norm was 2011. In recent years (2010–2012) high air temperature with rainfall was observed in July and August, when cranberries have end of flowering and fruit set. Especially in August berry bark is very thin, therefore fungi can easily infect them. The strong rain or hail grains can produce wounds in bark of berries, so the pathogens easily penetrates in berries caused fruit rot faster. Therefore the risk is higher to increase the field rot and storage rot of American cranberry in the first month in storage.

## RESULTS

### Incidence of field rot of American cranberry in plantations in Latvia

The fruit rot is an important factor that reduces the cranberry harvest quantity and quality. Incidence of field rot in American cranberry plantations at harvest was — 1.9% on average in 2011 and also in 2012 it reached 2.4% ( $p = 0.688$ ). When comparing the incidence of field rot in Latvia and North America, it is insignificant in our country. The incidence of field rot was similar in different growing areas, only 1.0–2.6% ( $p=0.212$ ) in 2011, but in 2012 the rotted berries were significantly more ( $p = 0.034$ ) in Alsunga than Ape, Talsi and Pārgauja municipality. During the harvest were observed not only soft, watery, yellowish brown, dark brown, black and off-colored berries, but also necrotic ovaries, which cause higher yield losses not rotted berries.

### Incidence of American cranberry storage rot, 2007–2012

The significant incidence of storage rot was observed directly after harvest, during the first two months in Latvia (Fig. 1, page 9). Until the end of November incidence of storage rot was 11–35% on average, until the end of December 24–66%, but in the end of February the incidence of cranberry fruit rot depending on year reached 50–88%.

During this study in 2007, the damaged berries of rot was the least, but in 2010, the highest incidence of storage rot was observed during the entire period of storage in comparison to other years ( $p < 0.001$ ). Probably rich precipitation in the summer promoted incidence of diseases, especially raindrops and hail lumps of ice in August during the berry formation could have damaged the skin of berries making easier for pathogens to infect the tissue. During this study a tendency to increase the incidence of storage rot was observed.

A study in autumn 2012 once again confirmed a significant incidence increase ( $p < 0.001$ ) of storage rot from the 30th of October (Fig. 2, page 10) which is exactly one month after the harvesting (the 1st–9th of October) reaching 4.8% on average. Incidence of cranberry fruit rot reached the highest intensity in the second month - at the end of November by increasing more than 5 times (27.3%).

During this study it was demonstrated that fresh American cranberries can keep in storage (5–7 °C) until end of November, at the latest by the end of December. If berries are intended for processing, as soon as possible is better to freeze, to avoid yield losses.

**Incidence of storage rot of American cranberry in the inspected plantations.** Incidence of storage rot in North America varied from year to year, but so far, the key factors influencing this process have not been found (Stiles and

Oudemans, 1999; Olatinvo, 2003; Sandler, 2008). The same situation in Latvia also was observed – incidence of storage rot was variable in different growing regions (Fig. 3, page 11).

Comparing the average data, no significant differences ( $p > 0.05$ ) were observed between the American cranberry growing regions in Latvia. Berries from Talsi municipality stored better at the beginning of storing than berries from Alsunga and Ape municipalities, which could probably be affected by the age of plantations, because these are one of the oldest American cranberry plantations in Latvia (since 1995 and 1997).

## **Causal agents of fruit rot for American cranberry and incidence in Latvia**

Various damage caused by cranberry fruit rot was observed in American cranberry plantations during the harvest and in storage. Berries were yellow-brown, dark brown, black and washed-out in terms of colour, but main part of them also was watery, rarely soft. Since 2006 when the first studies were started in Latvia, nine causal agents of cranberry fruit rot were detected: *Fusicoccum putrefaciens*, *Coleophoma empetri*, *Diaporthe vaccinii*, *Physalospora vaccinii*, *Phyllosticta elongata*, *Allantophomopsis lycopodina*, *Botrytis cinerea*, *Discosia artocreas*, *Pestalotia vaccinii*, which not only cause fruit rot, but also dieback of upright, blossoms and ovaries.

The visual symptoms for the main part of rotted berries were similar, but causal agents were different. Besides, a complex infection is often observed when several pathogens were isolated from one berry. In 2011 from the total rotted berries, 1.4 causal agents were isolated from one berry, while in 2012 the number of causal agents was slightly less — 1.1. Complex infection was rarely observed in the storage.

## **Incidences of causal agents of fruit rot during the harvest in 2011–2012**

Mainly four species caused field rot at harvest in 2011 and 2012 (Fig. 4, page 12): *Fusicoccum putrefaciens*, *Coleophoma empetri*, *Diaporthe vaccinii* and *Botrytis cinerea* ( $p = 0.533$ ), *F. putrefaciens* and *C. empetri* dominated.

In 2011, the *Allantophomopsis lycopodina* was found in several plantations (Rucava, Alsunga and Babīte), while in 2012 this fungus was found only in Babīte. From decayed berries *Pestalotia vaccinii*, *Discosia artocreas* and *Physalospora vaccinii* also were isolated.

## **Incidence of causal agents of storage rot during 2007–2012**

During the study (2007–2012) at the end of November *Fusicoccum putrefaciens* and *Coleophoma empetri* also dominated, but *Diaporthe vaccinii*, *Physalospora vaccinii*, *Phyllosticta elongata* and *Allantophomopsis lycopodina* were found significantly less ( $p = 0.0003$ , Fig. 5, page 13) and also further during the storage until the end of February.

A tendency to increase incidence of *F. putrefaciens* was observed in the storage, while the highest incidence of *Physalospora vaccinii*, *Phyllosticta elongata* and *Diaporthe vaccinii* was only in 2007, but in recent years rarely found. The incidence of *Physalospora vaccinii* and *P. elongata* slightly increased, but incidence of *B. cinera* decreased in storage compared to incidence at harvest.

## **Biology of *Fusicoccum putrefaciens* in Latvia**

In Latvia *Fusicoccum putrefaciens* cause not only end rot of cranberry, but also dieback of upright, blossoms and ovaries.

End rot is found during the harvest and in storage. It is very common in all American cranberry plantations in Latvia. At harvest incidence of *F. putrefaciens* was 33–42% from the rotted berries and 37–54% from the dead ovaries. Pycnidia of *F. putrefaciens* during the harvest period have been found on the dead ovaries mainly in plantations in Ape, Alsunga and Talsi municipality, where also higher incidence of the end rot of cranberry was observed.

During the sorage in 2010–2012, when berries were harvested at the begining of October, incidence of *F. putrefaciens* reached an average 0.8–2.7%. At the end of each following month were able to observe a significant increase ( $p = 0.018$ ), at the end of November it has reached 6–21% (Fig. 6, page 14). The incidence significantly incereased at the end of December reached 12 to 36% and until the end of February — 21 to 64%.

Incidence of *F. putrefaciens* in storage has changed over the years in the inspected cranberry growing regions (Fig. 7, page 14). The average lowest incidence of *F. putrefaciens* during the storage period (end of November) is observed in plantation in Babīte municipality — only 7%, while the highest incidence - in American cranberry plantation in Alsunga municipality, but no significant differences were observed between the growing regions ( $p = 0.234$ ).

No ascus stage of *Godronia cassandrae* Peck f. *vaccinii* Groves have been observed in Latvia, it is not widely spread in American cranberry plantations in North America either. Therefore, incidence of disease is more affected by anamorph stage, hence, there is an increasing tendency to use anamorph of *F. putrefaciens* in literature.

Mycelium of *F. putrefaciens* in pure culture on PDA culture was fast growing and produced fluffy, compact aerial mycelium in pale grey, pale green-grey colour, greyish yellow, olive green, yellow-green colored (Fig. 8, page 15).

Sometimes small red crystals formed over the mycelium. Colonies produced pycnidia mainly in the centre, below the mycelium. From matured pycnidia orange-brown, orange-red, creamy spore mass breaks out on the surface. Separately conidia were hyaline, elliptic to fusiform, with aseptate or pseudosapstite, on average  $2.0 \times 8.8 \mu\text{m}$  ( $1.5\text{--}3 \times 6\text{--}11 \mu\text{m}$ ) in size (Fig. 9, page 15).

## Biology of *Coleophoma empetri* in Latvia

*Coleophoma empetri* was isolated not only from rotted berries at harvest and in storage, but also from necrotic uprights, blossoms and ovaries. The ripe rot was observed both during the harvest and storage period and symptoms of rot are similar to rot caused by *F. putrefaciens* (off-colored, soft, watery).

During the harvest, from all rotted berries 20% of berries were infected by *C. empetri* in 2011 and up to 30% in 2012. The higher incidence of *C. empetri* was observed in Babīte municipality farm “Strēlnieki” reached 56% in 2011 and 78% in 2012.

During the storage period the incidence of *C. empetri* in 2007, 2009 and 2011 averagely from November until the end of February reached only 3–7% (Fig. 10, page 16). The year of 2010 significantly differed, where incidence of rot increased five times reaching already 21% ( $p < 0.001$ ) by the end of November; that particular year had more precipitation than other years.

Even though the incidence of *C. empetri* varied from year to year, no significant differences were observed between the cranberry growing regions ( $p = 0.707$ ), but slightly higher incidence of *C. empetri* was in cranberry plantations of Alsunga and Babīte municipalities, less in plantation of Talsi municipality (Fig. 11, page 16).

It is possible that real incidence of *C. empetri* is higher in Latvia, in some literature was indicated that this fungus can be endophytic and disease caused only in certain cases (Tadych et al., 2012). No teleomorph stage of *C. empetri* is observed anywhere in the world and also biology is still unknown.

Colonies of *C. empetri* on PDA produced low, fluffy mycelium; initially it is pale grey, and then became dark-brown; edge line may be straight as well as irregular (Fig. 12, page 17). Colonies produced a dense structure. Depending on the age of culture, colour of mycelia changed, because pale grey to white, higher groups of mycelia were covered it. Pycnidia produced in a circle not far from the outer edge or around the rot-affected berry. The pycnidia formed faster if infected sample of berry are placed in culture, but after cultivation emergence of pycnidia became longer. Conidia were hyaline, straight, uniformly cylindrical, and slightly punctuated,  $3.0 \times 14.8 \mu\text{m}$  ( $2.6\text{--}3.4 \times 12.2\text{--}17.08 \mu\text{m}$ ) in size (Fig. 13, page 17).

## Biology of *Phyllosticta elongata* in Latvia

During the harvest period in Latvia in some plantations (mainly in Babīte and Rucava municipality) on berries, dark red to black, small spots 1–2 mm in diameter caused by *Phyllosticta elongata* are observed. During the first years fruit rot caused by *P. elongata* has been observed. Small watery, off-coloured spots may develop on sound berries which tend to increase with time and form larger spots and overtook the entire berry and became soft, watery like berries infected by *F. putrefaciens* and *C. empetri*.

The incidence of fruit rot infected by *P. elongata* every year significantly decreased ( $p = 0.002$ ) in storage. By the end of November 2007 it reached 2% on average, but by the end of February — 9%. Only few berries damaged by *P. elongata* rot were observed also during the storing in 2009, mainly from December (1.6%), but until the end of March amount of decayed berries increased by 3.1%. During the last years the rot was not observed. During the storage until the end of February in 2011 only one berry was found in Rucava municipality and Pārgauja municipality in 2012. In generally differences between growing regions were not observed ( $p = 0.885$ ).

*P. elongata* has low virulence, therefore it is considered as endophytic fungi for American cranberry in USA (Tadych et al., 2012). The investigations are necessary to find out the level of pathogenicity of *P. elongata* in Latvia. Ascus stage of *Botryosphaeria vaccinii* (Sher) Barr has not been found in Latvia yet.

Colonies of *P. elongata* on PDA initially was fast-growing. The aerial mycelium was floury, pale blue-grey, forms darker and lighter colour circles, from reverse dark grey-green coloured (Fig. 14, page 18). Pycnidia in the culture appeared above mycelium after few days from the day of cultivation. They were globose, dark brown to black (grey above mycelium), from which pale greyish spore mass flows out. Separately conidia were hyaline, single-celled, obovate to oblong, slightly granular, sized  $13.5 \times 5.6 \mu\text{m}$  ( $10.1\text{--}16.4 \times 3.9\text{--}7.3 \mu\text{m}$ ) on average (Fig. 15, page 18). At the end the conidia has a mucilaginous long appendage.

## Biology of *Physalospora vaccinii* in Latvia

Blotch rot caused by *Physalospora vaccinii* appeared only in storage. On berries, mainly at the apex a pale red, slightly sunken dry rot spot was observed and dried out with time.

At the autumn in 2012 perithecia in American cranberry dead leaves was found, therefore matured spores can infect berries at harvest. During the season the fungus developed, but damages by rot were observed only in storage, although the blotch rot caused by *P. vaccinii* is widespread at harvest in cranberry plantations in USA (McManus et al., 2003; Olatinwo et al., 2003).

During storage, the blotch rot was mainly found in 2007 when it developed already in November and reached 7% by the end of February which was significantly

( $p = 0.045$ ) more than in other years. Incidence of rot in 2009 decreased for more than three times and reached only 2% in January and February, therefore berries were kept for one more month and it turned out that the rot increased by 1%. Also during the next years (2010–2012) incidence of *P. vaccinii* continued to decrease, but several berries with pale coloured rot could be found in storage.

When comparing the incidence of rot in cranberry growing regions, the higher incidence of *P. vaccinii* is more common in Talsi and Pārgauja municipality, but in 2009 also in Babīte municipality, however no significant differences were observed between the regions ( $p = 0.585$ ).

*P. vaccinii* has two strains. The dark strain usually is more common in North America and the light one develops only in rare cases, but last one is more common in Latvia.

Colonies of the light strain on PDA produced poor, low, branchy, yellowish white mycelium with slightly yellowish coloured in the reverse of plate (Fig. 16, page 19). The dark strain also produced low, poor and branchy mycelium, but moss brownish grey coloured, the pigmentation in the reverse of plate was also moss green-grey (Fig. 17, page 20). The light and dark strain after week produced globose to pyriform, dark brown perithecia, but ascii and paraphyses formed after five weeks (Fig. 18, page 20). Average size of ascii for the light strains was  $199.2 \times 42.1 \mu\text{m}$  ( $133\text{--}251 \times 19.6\text{--}64.1 \mu\text{m}$ ). Each ascii contained eight ascospores. Ascospores of white strain were obovoid, pale yellowish brown, with a punctate surface,  $43.5 \times 17.4 \mu\text{m}$  ( $33.8\text{--}53.8 \times 12.3\text{--}24.9 \mu\text{m}$ ) in size. Ascospores were hyaline shortly before maturing. Ascospores of the dark stem were slightly shorter, broadly obovoid with blunt ends, darker brown.

## Biology of *Allantophomopsis lycopodina* in Latvia

For American cranberry *Allantophomopsis lycopodina* cause black rot. Berries damaged by rot were dark brown to black, dry and later shrunk.

Level of incidence of black rot during the harvest period and storing was low. Incidence of black rot was the highest at the end of February 2007 reached 1.2%. In further years the incidence of rot gradually decreased ( $p < 0.001$ ) even down to 0.2–0.3% (end of February). In 2007 the black rot was significantly more common in Babīte municipality, while in 2009 — in Ape municipality, but it has never been found in Rucava municipality (2007–2012), even in 2011 when the black rot was found on the field. During this study no differences were found between regions ( $p = 0.332$ ).

Colonies of *Allantophomopsis lycopodina* on PDA are fast growing, produced poor low mycelium in dark moss-green greyish colour, pigmentation colour was green-grey to black in the reverse of plate (Fig. 19, page 21). After 15 days at room temperature globose to pyriform black pycnidia appeared. From maturity pycnidia erupted out a black, little creamy spore mass. Separately conidia were hyaline, unicellular, allantoid to lunate, binucleate,  $7.6 \times 2.7 \mu\text{m}$

( $6.6\text{--}8.6 \times 2.2\text{--}3.8 \mu\text{m}$ ) in size, at the ends, with two drops in each end (Fig., 20, page 21).

## The less common fungi on American cranberry and their biology in Latvia

*Botrytis cinerea* was isolated from necrotic uprights, flowers and rotted berries of cranberry. Damaged berries by rot were yellowish or yellow-brown. Yellow rot was found during the harvest and storage, but incidence was low in all cranberry plantations. During the harvest from all rotted berries 18% of berries were infected by *B. cinerea* in 2011, but in 2012 damages reached only 7%. In the beginning of storing period yellow rot was observed very rare.

Colonies of *B. cinerea* on PDA was fast-growing. Colonies were white and later became darker and produced rare, pale brown mycelium. After 10 days sclerotia was formed and later conidiophores and conidia were observed. Conidia were globose, ellipsoid, pale green-grey colored. Sporulation was observed in moist chamber from necrotic parts of the cranberry.

*Pestalotia vaccinii* caused fruit rot was found mainly at harvest, but very rare during storage, the incidence was low. On berries spots were slightly sunken, in the centre concentric rings were formed. Damaged berries were yellowish brown in storage. The fungus was isolated from necrotic uprights.

Colonies of *P. vaccinii* on PDA was fast-growing and produced yellowish white mycelium at the middle darker yellow, dense, high, from the reverse lemon-yellow colored. From matured acervuli through the mycelium erupted black, watery mass of conidia in spiral shaped. Separately conidia were fusiform, straight or slightly curved  $5.8 \times 27.5 \mu\text{m}$  ( $4.7\text{--}6.8 \times 22\text{--}32 \mu\text{m}$ ) in size, five celled. The three central cells were dark colored, both terminal cells were hyaline with appendages, apical cell had 3–4 filiform setae an average  $23.9 \mu\text{m}$  ( $16\text{--}33 \mu\text{m}$ ) in size. The basal cell had only one appendage an average  $13.7 \mu\text{m}$  ( $9.5\text{--}18 \mu\text{m}$ ) long. Also hyaline, elipsiod, slightly curved,  $2.0 \times 6.3 \mu\text{m}$  ( $1.3\text{--}2.7 \times 4.5\text{--}7.8 \mu\text{m}$ ) in size of microconidia was observed. Sporulation was observed in moist chamber from necrotic parts of the cranberry.

*Discosia artocreas* was isolated from necrotic uprights and ovaries of cranberry. During the harvest few yellowish brown berries damaged by rot were found.

Colonies of *D. artocreas* on PDA was fast-growing and produced low, rare and pale grey mycelium, from the reverse dark grey colored. From necrotic uprights fungus formed pyriform, dark, grayish brown pycnidia on PDA and also in moist chamber. From matured pycnidia erupted creamy, yellowish white conidia in mass. Separately conidia were hyaline on slightly grayish green, elongated, narrow,  $3.2 \times 14.2 \mu\text{m}$  ( $2\text{--}4 \times 12\text{--}17 \mu\text{m}$ ) in size, by rounded ends and three septate. At the both ends of conidia long appendages were.

Information about *D. artocreas* and damages caused to American cranberries was only found in few scientific articles, however, they did mention that the fungus has isolated from American cranberries damaged by rot (Olatinwo et al., 2003), but pathogenity level is unclear for cranberry. The *Discosia artocreas* was describes as a secondary parasite of woody species in Europe (Wolczanska et al., 2004; Vaney, 1996).

## Biology of *Diaporthe vaccinii* in Latvia

*Diaporthe vaccinii* (anamorph *Phomopsis vaccinii*) caused several damages to American cranberry in Latvia — upright dieback in the spring, during the flowering — blossoms and ovaries blight, viscid rot at harvest and in storage.

Only anamorph stage of *D. vaccinii* was found in Latvia, but also in North America the ascus stage develop very rarely. The fungus is included in list of EPPO A2/211 as quarantine organism (*Diaporthe vaccinii*, 2009), which is found on many of *Ericaceae* plants in several countries in Europe. The incidence of pathogen is under surveillance in Europe yet, although controlling of *D. vaccinii* is problematic in North America.

During the study, the incidence of *D. vaccinii* was observed low in Latvia and did not cause significantly yield losses of American cranberry, but the pathogen was found in five from six inspected American cranberry plantations in Latvia, except in Talsi municipality.

During the harvest in 2011 and 2012, the number of both blight ovaries and rotten berries was low, from all collected samples with symptoms of rot, 6–59% of berries were infected by *D. vaccinii*.

During storage *D. vaccinii* was found already from October to the end of February (Fig. 21, page 23). The number of rotten berries in 2007 and 2010 reached 3.3–3.5% and slightly less incidence of viscid rot was observed in 2011, but even less in 2009 and 2012 ( $p = 0.010$ ). Viscid rot was mainly found in Babīte and Rucava municipalities.

## Morphological peculiarities of *Diaporthe vaccinii* in Latvia

During the study morphological peculiarities of *Diaporthe vaccinii* isolates were observed different, therefore identification is difficult. The obtained isolates were grouped by similar characteristics and correlation was used to find relevance between peculiarities.

*D. vaccinii* is fast growing on PDA. After 4 days at room temperature the growth of colonies at maximum reached 3 cm (1.8–4.2 cm) in diameter on average. In the 8th day the growing of several isolates were stopped.

During the first days, the mycelium of *D. vaccinii* was white, after one month could notice changes in colour, when 84% of isolates surface mycelium were

grayish white, but other — greyish brown. In the first days, different structure of mycelium was observed for isolates: very dense and high, flat edge of the colony; very rare, low, visible branched. The edge of the colony was flat, but for some isolates it was intended. Later the edge was flat for all isolates.

One of the most characteristic features of pathogen is the texture of mycelium. The most common was one rarely more circles of compacted, dense, slightly elevated (until 5 mm) mycelium — zonate. After a month the main part of isolates (89%) had zonate. After a month from cultivation all isolates were grouped in four groups depending on pigmentation in reverse: 39% of isolates produced dark brown center, at the edge grayish white in reverse of plate, 34% of isolates had creamy-white pigmentation; 18% — dark brown; 9% — dark grey (Fig. 22, page 24).

Colonies of *D. vaccinii* on PDA produced slightly embedded, dark spherical pycnidia. The first pycnidia on PDA at room temperature above mycelium were observed in the 7th and 8th day, but 45% of isolates pycnidia formed later. The time of their appearance, placement and number were different: 39% of isolates after month had up to 10 pycnidia, but majority (62%) had more than 10 of them. Less pycnidia was observed for isolates with greyish white mycelium. No relevance between morphological features of pycnidia was observed, but analyse of Pearsos correlation showed week negative relevance ( $r = -0,308$ ,  $p = 0,042$ ; table 1, page 25) between time and number of pycnidia. Mainly pycnidia formed in seventh and eighth day. Even though for the most part of isolates the mycelium formed a zonate, pycnidia did not always develop on it. Only part of the isolates pycnidia had on zonate (Fig., 23, page 25), but for the main part of isolates (61%) pycnidia had scattered along the Petri dish (Fig. 24, page 25). Statistically significant relevance was found between colony growth rate, pycnidia placement and zonate. The colonies with a slower growth rate (diameter of colony was 3.0–3.3 cm in the seventh day) produced scattered pycnidia ( $r = -350$ ;  $p = 0.020$ ) and colonies with faster growth rate (diameter of colony was 5.0–6.2 cm in the seventh day) formed a zonate more often than the slow growing ones ( $r = -314$ ;  $p = 0.038$ ).

Creamy spore mass developed in pycnidia. *Alpha* and *beta* conidia are characteristic feature for genus of *Diaporthe* (Fig. 25, page 26). During the recent years scientists admit that *beta* conidia not always formed (Farr, Castlebury, Rossman u. c., 2002; Kačergius, Gabler and Jovaišiene, 2004b; *Diaporthe vaccinii*, 2009). *Alpha* conidia were hyaline, fusiform, ellipsoid, straight, aseptate, biguttulate. A few conidia of some isolates were relatively longer, with sharp apex, but most were with slightly rounded ends. The average size of *alpha* conidia ( $n = 2537$ ) were recorded: 7.39  $\mu\text{m}$  (5.02–10.99  $\mu\text{m}$ ) in length and 2.76  $\mu\text{m}$  (1.49–4.40  $\mu\text{m}$ ) in width. *Beta* conidia could be observed only for two isolates, but they were small in number. The *beta* conidia were hyaline, filiform, straight or curved and aseptate. The length of *beta* conidia from Ape was significantly ( $p < 0.001$ ) higher 23.7  $\mu\text{m}$  ( $\pm 1.55 \mu\text{m}$ ) than of those from Rucava 15.3  $\mu\text{m}$  ( $\pm 2.62 \mu\text{m}$ ) and the width were significantly ( $p = 0.044$ ) greater 1.6  $\mu\text{m}$  ( $\pm 0.19 \mu\text{m}$ ), but for isolate from Ape 1.5  $\mu\text{m}$  ( $\pm 0.11 \mu\text{m}$ ).

Almost every isolate of *D. vaccinii* was morphologically different therefore it is complicate to characterize the specific features of *D. vaccinii* in pure culture, because of the similar features that can be seen for other fungi from *Diaporthe* genus, results of genetic test are very important. Based on ribosomal DNA (rDNA) ITS1-5.8S-ITS2 region sequences, obtained sequences of isolates corresponded to *D. vaccinii*. All isolates showed close phylogenetic relationship (99–100 %) to other isolates of *D. vaccinii* from Lithuania, USA (Massachusetts, Mena, Wisconsin, New Jersey) and Great Britain. Therefore probably the fungus is imported with planting material in Latvia.

During the study, infection by *D. vaccinii* was proved on American cranberry in Latvia. After inoculation from cranberry isolated *D. vaccinii*, caused viscid rot and upright dieback of American cranberry. The fungus mainly infected berries by wounds, but infection is also possible through intact bark, but this feature for infected stems were not observed, but more infected stems were without wounds. Probably the fungus can easier infect new tissue of stems than berries, because the surface of berry is covered with a layer of wax. Probably *D. vaccinii* is more hazardous for stems than berries of American cranberry, if berries are not mechanically damaged during the harvest. The investigations would need to be repeated to analyze destructiveness of *D. vaccinii* for other *Vaccinium* crops and wild plants.

## CONCLUSIONS

1. The damages of fruit rot for American cranberry was caused by nine fungi in Latvia: *Fusicoccum putrefaciens* Shear (teleomorph *Godronia cassandrae* Peck f. *vaccinii* Groves), *Coleophoma empetri* (Rostr.) Petr., *Diaporthe vaccinii* Shear in Shear, N. Stevens, & H. Bain (anamorph *Phomopsis vaccinii* Shear in Shear, N. Stevens, & H. Bain),, *Physalospora vaccinii* (Shear) Arx & E. Müller, *Phyllosticta elongata* G. J. Weidemann in G. J. Weidemann, D. M. Boone, & Burdsall (teleomorph *Botryosphaeria vaccinii* (Sher) Barr), *Allantophomopsis lycopodina* (Hohn.) Carris, *Botrytis cinerea* Pers.: Fr., *Discosia artocreas* (Tode) Fr., *Pestalotia vaccinii* (Shear) Guba.
2. Economically significant losses of American cranberry were caused mainly by *Fusicoccum putrefaciens* and *Coleophoma empetri* at harvest and during storage in Latvia.
3. During harvest period, incidence of field rot in American cranberry plantations in Latvia reached only 1.9% to 2.4%, which is considerably lower than in North America.
4. Fresh American cranberries in Latvia can store (at 5–7 °C) for two months. By the end of November 11–35% of berries in average are damaged by storage rot, and by the end of December it reached 66%.
5. Quarantine organism *Diaporthe vaccinii* has been found in five out of six inspected American cranberry plantations in Latvia.
6. Incidence of *Diaporthe vaccinii* in American cranberry plantations in Latvia was low, but it causes upright and ovary dieback, viscid rot on the field and in storage.
7. Mycelium of *Diaporthe vaccinii* was grayish white to grayish brown; colony produced zonate or non zonate in the centre; reverse pigmentation – creamy white, dark brown, dark gray or produced dark brown centre, at the edge grayish white; pycnidia appeared from 7 days up to one month after inoculation; formed on zonate or scattered; isolates produced various number and size of pycnidia.
8. Isolates of *Diaporthe vaccinii* were morphologically different, but obtained sequences based on rDNS ITS1-5.8S-ITS2 region conformed to *D. vaccinii*. Phylogenetic analyses showed that the fungus has been probably imported to Latvia with planting material from North America.
9. *Diaporthe vaccinii* infected berries and shoots of American cranberry, damaged tissues promote infection, however, the infection is also possible through undamaged tissue.