



**LATVIJAS BIOZINĀTŅU UN TEHNOLOĢIJU
UNIVERSITĀTES**
AUGU AIZSARDZĪBAS ZINĀTNISKĀ INSTITŪTA
“AGRIHORTS”

Projekta

**Alternatīvās kaitīgo organismu ierobežošanas
iespējas auzu un rudzu sējumos**

Nr. 10 9.1-11/23/1979-e

zinātniskā atskaite

Projekta vadītājs: Maksims Fiļipovičs

Jelgava, 2023

Projekta izpildītāji:

LBTU Augu aizsardzības zinātniskais institūts “Agrihorts”:

Maksims Fiļipovičs, pētnieks, Mg. biol.

Regīna Rancāne, pētniece, Mg. agr.

Inga Moročko-Bičevska, vadošā pētniece, Dr. agr.

Inta Jakobija, pētniece, Mg. agr.

Viktorija Zagorska, vadošā pētniece, Dr.sc.ing.

Aigars Šutka, pētnieks, Mg. agr.

Guna Bundzēna, Zinātniskā asistente, Mg. agr.

Alise Klūga, pētniece, Mg. biol.

Līga Zemeca, pētniece, Mg. biol.

Saturs

Kopsavilkums	5
Ievads	7
1. Lauka izmēģinājumi auzu sējumos	9
1.1. Izmēģinājumu iekārtošanas, apstrādes un uzskaišu metodika auzu sējumos	9
Izmēģinājumu vieta un apstākļi	9
Mākslīgās inficēšanas metodika	13
Laukdīdzības novērtēšana	14
Lapu zaļā laukuma novērtēšana	14
Hlorofila satura (SPAD) mērījumi	14
Slimību uzskaites	15
Ražas novākšana, kvantitatīvo un kvalitatīvo parametru noteikšana	15
1.2. Rezultāti un diskusija	16
1.2.1. Sēklu apstrādes izmēģinājums auzu sējumā	16
1.2.2. Integrētais izmēģinājums auzu sējumā	17
1.2.3. Bioloģiskais izmēģinājums auzu sējumā	19
1.3. Secinājumi	21
2. Mikotoksīnu noteikšana	22
2.3. Mikotoksīnu analīžu veikšanas metodika	22
2.4. Mikotoksīnu analīžu rezultāti un diskusija	22
3. Sēklu dīdzības un mikrobioloģiskais tests	25
3.3. Sēklas materiāla dīdzības noteikšana	25
Rezultāti	25
3.2 Sēklas materiāla inficētības noteikšana	26
Rezultāti	26
4. Siltumnīcas izmēģinājumi	27
4.1. Izmēģinājuma metodika	27
4.2. Rezultāti	30
5. Patogēno sēņu daudzveidības izpēte auzu un rudzu sējumos, īpašu uzmanību pievēršot bioloģiskajām audzēšanas sistēmām	32
5.1. Metodika patogēno sēņu daudzveidības izpētei auzām	32
5.2. Rezultāti – <i>Fusarium</i> sugu daudzveidība auzu sējumos	33

6. Rudzu patogēnu izpēte	35
6.1. Metodika rudzu dīgstu paraugu ievākšanai	35
6.2. Metodika patogēno sēņu izdalīšanai no rudziem	35
6.3. Rezultāti – toksīnus veidojošo sēņu sastopamība, sugu identificēšana rudzu dīgstos	37
7. Alternatīvo ierobežošanas metožu ekonomisko un saimniecisko pamatojums	39
7.1. Literatūras analīze par slimību un mikotoksīnu sastopamības pētījumiem rudzu sējumos	39
7.2. Literatūras analīze un diskusija par alternatīvu ierobežošanas metožu pētījumiem	40
7.3. Secinājumi un turpmākie uzdevumi alternatīvo augu aizsardzības metožu izpētē	42
8. Literatūras apskats.....	43

Kopsavilkums

Pārskata periodā LBTU Augu aizsardzības zinātniskais institūts veica daudzveidīgus pētījumus, lai sasniegtu projekta mērķi: izvērtēt alternatīvās kaitīgo organismu ierobežošanas metodes, lai samazinātu sintētisko augu aizsardzības līdzekļu lietojumu auzu un rudzu sējumos, vienlaikus iegūstot augstas kvalitātes ražu.

Stendes pētniecības centrā Dižstendē iekārtoja trīs izmēģinājumus auzu sējumos, lai izvērtētu alternatīvu metožu pielietošanas iespējas auzu slimību (galvenais akcents uz *Fusarium* spp. patogēnu), ierobežošanai gan bioloģiskajos, gan integrētajos auzu sējumos (**1. projekta uzdevums**). Izvēlējās lietot sēklas materiālu (auzu šķirne 'Lelde'), kas ir potenciāli piesārņots ar sēņu slimību ierosinātājiem un divos izmēģinājumos mākslīgi inficēja augus ar iepriekšējos pētījumos iegūtiem un identificētiem *Fusarium* spp. izolātiem, lai izmēģinājumos nodrošinātu infekcijas fonu. 2023. gada veģetācijas sezonā aprīlis, maijs un jūnijs bija sausi, līdz ar to nebija auzu slimību veicinošu apstākļu.

Sēklu apstrādes izmēģinājumā auzu lapu brūnplankumainības attīstības pakāpe bija zema, tādēļ pēc pirmā izmēģinājuma gada nevar izdarīt secinājumus par atsevišķu sēklu apstrādes preparātu efektivitāti lapu slimību ierobežošanai. Integrētajā izmēģinājumā būtiskas atšķirības auzu lapu brūnplankumainības attīstības pakāpē parādījās vienā no uzskaitēm – uz 2. lapas būtiski zemāka slimības attīstības pakāpe bija visos apstrādātajos variantos salīdzinājumā ar kontroli, kurā slimības attīstības pakāpe sasniedza gandrīz 5%. Bioloģiskajā izmēģinājumā uzskaitē uz 3. lapas parādījās būtiskas atšķirības auzu lapu brūnplankumainības attīstības pakāpē starp kontroli un apstrādātajiem variantiem, bet, ņemot vērā nelielo slimības izplatību, pēc pirmā izmēģinājuma gada nevar izdarīt secinājumus par atsevišķu preparātu efektivitāti. Ražas apjomā un kvalitatīvajos parametros būtiskas atšķirības starp variantiem neparādījās nevienā no izmēģinājumu variantiem.

Fusarium ģints sēņu metabolisma rezultātā var graudos veidoties - ZEN, T2, HT2, DON un citi mikotoksīni, tādēļ pētījuma laikā visu izmēģinājumu variantos noteikts toksīnu T2/HT2 un zearelonu (turpmāk – ZEN) daudzums auzu graudos, plānots noteikt arī deoksinivalenolu (turpmāk – DON) daudzumu (**1. projekta uzdevums**). Sēklu apstrādes izmēģinājumā lielākā mikotoksīnu koncentrācija noteikta kontroles variantā – 124 $\mu\text{g kg}^{-1}$, apstrādātajos variantos koncentrācija bija no 13-47 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Auzu paraugos no izmēģinājuma, kas bija iekārtots integrētajā sējumā, T-2 un TH-2 koncentrācija variantos bija 62-225 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Bioloģiskajā izmēģinājumā T-2 un TH-2 koncentrācija bija visaugstākā no 129-250 $\mu\text{g kg}^{-1}$, vidēji 183 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Lai arī mikotoksīni T-2 un TH-2 paraugos tika noteikti, nevienā no paraugiem tie nepārsniedza pieļaujamo koncentrāciju 1000 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Izmēģinājumu ierīkoja arī Agrihorts siltumnīcā ar mērķi noskaidrot slimības attīstību mākslīgi inficētajiem augiem kontrolētos apstākļos un aprobēt hiperspektrālās (turpmāk – HS) analīzes izmantošanu *Fusarium* un *Pyrenophora* ģints sēņu izraisīto slimību agrīnai noteikšanai (**1. projekta uzdevums**).

Ar Zemkopības Ministrijas atbalstu 2020.-2021. gadā apsekoti auzu sējumi, ievāca dīgstu un skaru paraugi ar redzamām slimību pazīmēm. No ievāktajiem paraugiem izolēja un Agrihorts

kolekcijā saglabāja vairāk nekā 500 *Fusarium* izolātus. Sākotnējā identifikācijā, pēc morfoloģiskajām pazīmēm un atsevišķu izolātu ITS1/5.8S/ITS2 reģiona sekvencēm, noteiktas 16 dažādās sugas. Graudos indikatīvi pēc morfoloģiskajām pazīmēm identificētas vairākas bīstamos toksīnus veidojošās *Fusarium* sugas – *F. poae*, *F. sporotrichoides*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*. Pārskata periodā uzsākta visā kolekcijā esošo *Fusarium* izolātu DNS izdalīšana, lai tālāk noteiktu sugas un toksīnus veidojošos patogēna genotipus ar PCR balstītas diagnostikas metodi (**3. projekta uzdevums**). Uzsākta arī kolekcijā esošo izolātu saglabāšana -80 °C temperatūrā, lai nodrošinātu to ilgstošu uzglabāšanu un kolekcijas stabilitāti.

Fusarium sugu precīzai identifikācijai un daudzveidības noteikšanai no kolekcijas kopumā atlasīts 191 dažādu sugu izolāts (**1. un 3. projekta uzdevums**). Konstatēja, ka morfoloģiski visdaudzveidīgākās bija *F. poae*, *F. sporotrichoides*, *F. graminearum*, *F. armeniacum* (6 - 12 morfotipi). Pārskata periodā adaptēta vienkāršota un lielum paraugu apjomam piemērota nukleīnskābju izdalīšanas metodika, lai varētu veikt visu kolekcijā esošo izolātu identitātes apstiprināšanu ar molekulārām diagnostikas metodēm. Līdz pārskata perioda beigām, no kolekcijā kopumā esošajiem 537 *Fusarium* izolātiem, DNS izdalīts 249 izolātiem. Vienlaikus šie izolāti saglabāti -80 °C temperatūrā, lai nodrošinātu to ilgstošu uzglabāšanu un kolekcijas stabilitāti.

Lai noskaidrotu sēņu daudzveidību rudzu sējumos (**1. un 3. projekta uzdevums**), veica rudzu sējumu monitoringu visos Latvijas novados, iekļaujot gan bioloģiskos, gan integrētas audzēšanas rudzu sējumus. Kopā no visām monitoringā iekļautajām saimniecībām ievākti 2000 rudzu dīgstu paraugi (100 no katras saimniecības). Izstrādāja metodiku patogēno sēņu izdalīšanai no rudzu paraugiem un uzsāka tīrkultūru iegūšanu un kolekcijas saglabāšanu tālākajiem pētījumiem. Pārskata periodā iegūti un saglabāti 250 sēņu izolāti, kas iegūti rudzu sējumu monitoringa laikā.

Alternatīvo ierobežošanas metožu izvēlei, galvenokārt *Fusarium* spp. ierosinātu slimību ierobežošanā, un to pamatošanai, pārskata periodā veica literatūras analīzi par citās valstīs veiktu pētījumu rezultātiem auzu un rudzu sējumos (**2. projekta uzdevums**). Secināja, ka pētījumos izmantotie mikroorganismus saturošie augu aizsardzības līdzekļi ir potenciāli noderīgi, lai samazinātu ķīmiski sintezētu augu aizsardzības līdzekļu lietošanu auzu sējumos un stiprinātu augu izturību pret *Fusarium* ģints sēņu ierosinātām slimībām, it īpaši bioloģiskajā saimniekošanas sistēmā. Pamatojoties uz izmēģinājumu rezultātiem, varēja secināt ka *Pythium oligandrum*, *Trichoderma* spp., *Azotobacter* spp. un *Pseudomonas* saturošu mikrobioloģisko preparātu lirtošana var samazināt mikotoksīnu T2/HT2 saturu auzu graudos.

Nepieciešami pētījumi vairāku veģetācijas periodu laikā par mikroorganismu saturošu augu aizsardzības un mēslošanas līdzekļu lietošanas saimniecisko noderīgumu un ekonomisko pamatojumu auzu slimību ierobežošanā un augu izturības veicināšanā pret slimību ierosinātajiem, īpaši bioloģiskajos sējumos.

Ievads

Auzas (*Avena sativa* L.) un rudzi (*Secale cereale* L.) ir Latvijā plaši audzēti graudaugi un nozīmīgs pārtikas avots, kas satur virkni organismam nepieciešamo uzturvielu – šķiedrvielas, aminoskābes, minerālvielas, vitamīnus. Rudzi ir galvenā maizes labība mērenajā klimatiskajā zonā. 2022. gadā pēc Centrālās Statistikas pārvaldes datiem rudzi Latvijā audzēti 35,3 tūkst.ha lielā platībā, sasniedzot kopražu 129 tūkst. t, savukārt, 2021. gadā 36,3 tūkst.ha lielā platībā ar 138,4 tūkst. t kopražu. Auzas audzētas plašāk: 2022. gadā sējplatības sasniedza 83,4 tūkst.ha ar 224,5 tūkst. t kopražu, bet 2021. gadā 90,1 tūkst.ha 182,9 tūkst. t kopražu (<https://stat.gov.lv/lv/statistikas-temas/noz/lauksaimn/preses-relizes/12257-lauksaimniecibas-kulturu-sejumu-platibas-un>). Auzas audzē arī zaļmasas ieguvei un pēdējos gados līdz ar sabiedrības interesi par veselīgu uzturu, pieaug arī pieprasījums pēc bioloģiskajiem auzu produktiem.

Izaicinājums bioloģiskajā lauksaimniecībā ir augu patogēnu ierobežošana ar videi draudzīgām metodēm. Patogēni bieži vien ir agresīvi, labi pielāgojas apkārtējiem apstākļiem un var veidot toksīnus, kas nomāc auga augšanu, kā rezultātā samazinās raža un pasliktinās graudu kvalitāte. *Fusarium* spp. veidotie mikotoksīni lielos daudzumos ir toksiski gan cilvēkiem, gan lauksaimniecības dzīvniekiem. Šādu graudu lietošana uzturā var radīt iekaisumus gremošanas sistēmā, negatīva ietekme ir arī uz aknu, sirds, smadzeņu, nieru un perifērās nervu sistēmas darbību. ES maksimālais atļautais mikotoksīnu daudzums graudos, kuri lietojami cilvēku uzturā ir 750 µg kg⁻¹ un 1000 µg kg⁻¹ (Commission Regulation (EC) No 401/2006).

Vitāli trūkst visaptverošas un vienlaicīgi pietiekami detalizētas informācija par Latvijas klimatiskajos apstākļos sastopamajiem patogēniem auzās un rudzos, kā arī to ierobežošanas metodēm. Tāpat trūkst informācijas par patogēnu, piemēram, *Fusarium* spp. veidoto mikotoksīnu daudzumu auzu un rudzu graudos.

LBTU zinātniskais institūts “Agrihorts” ar Zemkopības Ministrijas atbalstu 2020. gadā uzsāka pētījumu ar mērķi identificēt auzās sastopamos patogēnus, savukārt rudzu slimības līdz šim noteiktas tikai lauka apstākļos (Bankina et al. 2013). Informācija par rudzu patogēnu daudzveidību integrētajos un bioloģiskajos sējumos Latvijā ir nepilnīga, nav veikti detalizēti un ilgstoši pētījumi.

2023. gadā laboratorijas iepriekš uzsāktie pētījumi turpināti, veikti arī lauka izmēģinājumi. Iegūtā informācija par patogēno sēņu daudzveidību auzās un rudzos turpmāk ļaus izvēlēties piemērotākos alternatīvos ierobežošanas līdzekļus un sniegt rekomendācijas zemniekiem augstvērtīgas ražas ieguvei.

Projekta mērķis: Izvērtēt alternatīvās kaitīgo organismu ierobežošanas metodes, lai samazinātu sintētisko augu aizsardzības līdzekļu lietojumu auzu un rudzu sējumos, vienlaikus iegūstot augstas kvalitātes ražu.

Pētījuma rezultātus varēs pielietot praksē integrētie un bioloģiskie audzētāji, konsultanti, kā arī citi lauksaimniecības nozares pārstāvji.

Projekta uzdevumi 2023. gadam:

1. Laboratorijas un lauka pētījumi auzu un rudzu sējumos pamatojoties uz noteikto sēņu daudzveidību, lai noskaidrotu efektīvākos kaitīgo organismu alternatīvos ierobežošanas līdzekļus un veiktu pasākumu ekonomisko izvērtēšanu.
2. Balstoties uz izmēģinājumos iegūtajiem rezultātiem un literatūras izpēti veikt alternatīvo ierobežošanas metožu ekonomisko un saimniecisko pamatojumu.
3. Patogēno sēņu daudzveidības izpēte auzu un rudzu sējumos, īpašu uzmanību pievēršot bioloģiskajām audzēšanas sistēmām.

1. Lauka izmēģinājumi auzu sējumos

1.1. Izmēģinājumu iekārtošanas, apstrādes un uzskaišu metodika auzu sējumos

Izmēģinājumu vieta un apstākļi

2023. veģetācijas sezonā sadarbībā ar Stendes pētniecības centru Dižstendē, Lībagu pagastā, Talsu novadā tika iekāroti divi izmēģinājumi integrētajā (skat. 1.1. att.) un viens bioloģiskajā auzu sējumā.



1.1. attēls. Izmēģinājums slimību ierobežošanai integrētajā auzu sējumā.

Izmēģinājumi iekārtoti auzu šķirnē 'Lelde'. Integrētajā sējumā velēnu podzolētā virspusēji glejotā, viegla morēnu smilšmāla augsnē, pH 6.0; organisko vielu saturs 2.5%; kustīgais kālijs 182 mg kg⁻¹ (augsts); kustīgais fosfors 222 mg kg⁻¹ (ļoti augsts), priekšaugi – vasaras kvieši. Bioloģiskajā sējumā velēnu podzolētā augsne pH 5.68-7.06, org. v. 2.03-2.59, K₂O-104.5-156 mg kg⁻¹, P₂O 182.2-247.6 - mg kg⁻¹, Mg 117.0-174.0mg kg⁻¹, priekšaugi - kartupeļi. Auzu izsējas norma abos tīrumos bija 500 dīgstošas sēklas (344 kg ha⁻¹) uz kvadrātmetru ar dīdžību 40%, sēklu apstrādes izmēģinājumā sējas datums – 9. maijs, izmēģinājumam integrētajā audzēšanas sistēmā – 28. aprīlis un bioloģiskajā sējumā – 19. aprīlis. Sēklu apstrādes izmēģinājumu lauciņu platība bija 1,2 x 10 m (12 m²), integrētajā izmēģinājumā 2 x 12 m (24 m²) un bioloģiskajā izmēģinājumā 1,2 x 10 m (12 m²).

Integrētajā auzu sējumā viens no izmēģinājumiem iekārtots, veicot sēklas apstrādi ar dažādiem mikrobioloģiskajiem preparātiem un sintētisko kodni, kā arī iekļaujot variantus, kur mikrobioloģiskie preparāti izmantoti augsnes apstrādei pirms sējas, ar mērķi, noteikt efektivitāti

dažādiem preparātiem fuzariozes (*Fusarium* spp.) ierobežošanai (1.1. tabula) (turpmāk – sēklu apstrādes izmēģinājums).

1.1. tabula

Fungicīdu smidzinājumu laiks, augu attīstības stadija un izmantotie preparāti sēklu apstrādes izmēģinājums

Nr.	Variants	Deva, L vai kg/t vai ha	Sēklu apstrāde	Augsnes apstrāde pirms sējas
1	Neapstrādāta kontrole	-	-	-
2	Mikrobioloģiskais preparāts Nr.1	10,25	X	
3	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 2	17		X
4	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 1	10,25	X	
	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 2	17		X
5	Kinto Plus	1,5	X	
6	Cedomon	7	X	
7	Cedomon	10	X	

Divi izmēģinājumi iekāroti, lai noteiktu dažādu preparātu efektivitāti, veicot smidzinājumus veģetācijas laikā dažādos attīstības etapos, lai ierobežotu fuzariozi (*Fusarium* spp.), kā arī atsevišķos variantos arī potenciālās lapu slimības. Integrētajā sējumā izmantoti gan mikrobioloģiskie preparāti, gan sintētiskie fungicīdi (1.2. tabula) (turpmāk – integrētais izmēģinājums).

1.2. tabula

Fungicīdu smidzinājumu laiks, augu attīstības stadija un izmantotie preparāti integrētajā auzu sējumā

Nr.	Variants	Deva, L vai kg/ha	6.06. AE 24-31	15.06. AE 39	23.06. AE 53-55	30.06. AE 63-65
1	Neapstrādāta kontrole	-		-		-
2	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3	10		X		
3	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	10			X	
4	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	10				X
5	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3	10		X		
	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	10				X
6	Balaya	0,5		X		
	Orius 250 EW	1,0				X
7	Polyversum	0,1	X		X	

Bioloģiskajā sējumā (turpmāk – bioloģiskais izmēģinājums) lietoti tikai mikrobioloģiskie preparāti (1.3. tabula).

1.3. tabula

Fungicīdu smidzinājumu laiks, augu attīstības stadija un izmantotie preparāti bioloģiskajā auzu sējumā

Nr.	Variants	Deva, L vai kg/ha	6.06. AE 31-32	15.06. AE 37-39	23.06. AE 53-55	30.06. AE 63-65
1	Neapstrādāta kontrole	-		-		-
2	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3	10	X	X		

3	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	10			X	
4	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	10				X
5	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3	10	X	X		
	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	10				X
6	Polyversum	0,1	X		X	

Informācija par izmēģinājumos izmantotajiem preparātiem norādīta 1.4. tabulā. Mikrobioloģiskie preparāti Nr.1-4 izmantoti, kā mikrobioloģiskie mēslošanas līdzekļi, tikai kā papildu faktoru uzskaitot lapu slimību izplatību un attīstību. Mikrobioloģiskajam preparātam Cedomon kārtota VAAD lietošanas atļauja.

1.4. tabula

Izmēģinājumā izmatoto produktu aktīvās vielas un pielietojums

Preparāts	Darbīgā viela	Lietošanas mērķis	Apstrādes veids
Mikrobioloģiskais preparāts Nr.1	Subtimikss, Trihodermins, Vitmīns	Mēslošana, mikrobioloģiskā daudzveidība	Sēklas
Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 2	Azotobakterīns, Subtimikss, Trihodermins		Augsne
Mikrobioloģiskais preparāts Nr.3	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus amyloliguefaciens</i> , 1×10^9 katrs mikroorganisms		Lapas
Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Trichoderma asperellum</i> , 1×10^9 katrs mikroorganisms		Vārpas
Polyversum	<i>Pythium oligandrum</i> M1, 1000000 oosporas/g	Fuzarioze (<i>Fusarium</i> spp.)	Lapas, vārpas
Cedomon	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> MA 342, (120 g/kg), 109- 1010 k.v.v./ml	Sakņu un dīgstu puves (<i>Fusarium</i> spp.)	Sēklas
Kinto Plus	Tritikonazols, 33.3 g/l, fluksapiroksāds, 33.3 g/l, fludioksonils, 33.3 g/l	Sakņu un dīgstu puves (<i>Fusarium</i> spp.)	Sēklas
Balaya	Mefentriflukonazols, 100 g/l, piraklostrobīns, 100 g/l	Auzu lapu brūnplankumainība, auzu vainagrūsa, graudzāļu miltrasa	Lapas
Orius 250 EW	Tebukonazols, 250 g/l	Auzu vainagrūsa, graudzāļu miltrasa	Lapas, vārpas

Izmēģinājumu varianti (1.1., 1.2., 1.3. tabulas) iekāroti randomizēti pēc nejaušības principa 4 atkārtojumos. Bioloģiskajā un integrētajā izmēģinājumā smidzinājumi veikti četros dažādos

apstrādes laikos. Lai arī sējas datums izmēģinājumos bija atšķirīgs, augu attīstība, sākot no jūnija vidus, abos izmēģinājumos bija līdzīga. A apstrādi integrētajā izmēģinājumā veica cerošanas laikā AE 24-31, lai pasargātu augus no infekcijas izplatīšanās uz lapām augu augšanas sākotnējā periodā, B apstrādi veica karoglapas attīstības laikā AE 39, šajā periodā ir būtiski pasargāt augu karoglapu, kas ir svarīga graudu kvalitatīvai un kvantitatīvai attīstībai, C apstrādi veica vārpošanas laikā AE 53-55, D apstrādi ziedēšanas laikā AE 63-65, C un D apstrāde veikta ar mērķi ierobežot potenciālo *Fusarium* ģints sēnu izplatību. Bioloģiskajā izmēģinājumā apstrādes tika sāktas stiebrošanas laikā AE 31-32, pēc tam attīstības stadijas apstrāžu laikā bija tādas pašas kā integrētajā izmēģinājumā.

Integrētajā sējumā, kur ierīkots sēklu apstrādes un integrētais izmēģinājums, pamatmēslojumam pirms sējas 24. aprīlī izmantots YaraMila NPK(S) 14-14-21 400 kg ha⁻¹, virsmēslojums 18. maijā AXAN N27-S5 130 kg ha⁻¹ (N35), nezāles ierobežotas 24. maijā ar MCPA 750 1.5 L ha⁻¹, smidzinājums ievu-auzu laputs ierobežošanai veikts 12. jūnijā ar Carnadine Extra 0.15 L ha⁻¹. Nezāles bioloģiskajā laukā ierobežotas 19. maijā ar rotējošām ecēšām Einböck.

Apstrāde ar mikrobioloģiskajiem preparātiem un fungicīdiem izmēģinājumos veikta ar riteņa smidzinātāju “Euro-Pulve” ar horizontālo smidzināšanas stieni un regulējamu darba platumu atbilstoši lauciņa izmēriem, kurš darbojas ar saspiesta gaisa palīdzību un aprīkots ar augu aizsardzības līdzekļa lietošanai atbilstošām sprauslām. Smidzināšanai izmantotais ūdens daudzums 200 l/ha, kas attiecīgi tika aprēķināts uz variantu platību. Meteoroloģiskie apstākļi smidzināšanas datumos parādīti 1.5. tabulā.

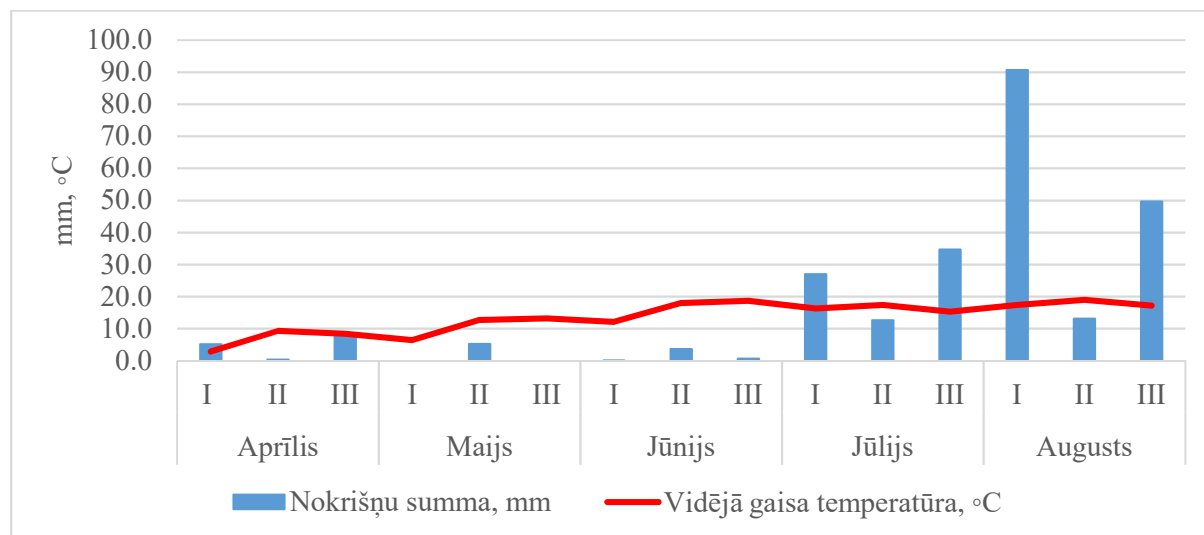
1.5. tabula

Meteoroloģiskie apstākļi smidzināšanas laikā

	6.06.	15.06.	23.06.	30.06.
Temperatūra, °C	23,5	24,0	23,0	20,6
Augsnes mitrums	sausā	sausā	sausā	sausā
Relatīvais gaisa mitrums, %	32	29	69	59
Vēja ātrums (m/sec)	3,7	3,9	2,9	3,1
Augu virsma	sausā ar turgoru	sausā ar turgoru	sausā ar turgoru	sausā ar turgoru
Nokrišņi (mm) 6 h pēc apstrādes	0	0	0	0
Nokrišņi (mm) nedēļu pēc apstrādes	0	4,2	0,2	27

Aprīlis bija salīdzinoši silts un sauss ar mēneša vidum neparasti augstu temperatūru un maz nokrišņiem. Vidējā temperatūra Stendē bija 6,9 °C, svārstoties no -3,2 °C (03.04.) līdz 21,3 °C (23.04.), kas ir par 1,1 °C virs normas. Nokrišņu daudzums bija 13,1 mm, kas ir 34% no normas. 2023. gadā bija sausākais maijs kopš nokrišņu mērījumu sākuma Latvijā 1924. gadā. Stendē nolija tikai 5,3 mm nokrišņu, lietus lija 15.05. un 16.05., atlikušo mēnesis bija sauss (1.2. att.). Nokrišņu daudzums sasniedza tikai 12% no normas. Mēneša sākumā bija pavasara salnas un Stendē 06.05. tika uzstādīts jauns zemākās temperatūras rekords -6,0 °C. Kopumā temperatūra svārstījās no -5,6 °C (06.05.) līdz 24,4 °C (24.05.) un bija vidēji 10,8 °C, kas ir par -0,2 °C zem normas. Laika apstākļi maijā kopumā bija nelabvēlīgi augu attīstībai. Sausums turpinājās arī jūnijā, un tas bija otrais sausākais jūnijs Latvijā kopš mērījumu sākuma 1924. gadā. Stendē visu mēnesi bija

vērojams nokrišņu minimums – 4,5 mm (6% no normas). Temperatūra, kas vidēji bija 16,3 °C (1,6 °C virs normas), svārstījās robežās no -2,3 (02.06.) līdz 27,7 °C (21.06.) ar vēsāku mēneša sākumu un mēneša beigām karstākām nekā parasti.



1.2. attēls. Meteoroloģiskie apstākļi 2023. Dati no Stendes HMS.

Jūlijs Stendē bija nedaudz vēsāks, nekā parasti. Maksimālā temperatūra mēneša vidū sasniedza 30,2 °C (16.07). Aukstākajā naktī temperatūra noslīdēja līdz 7,6 °C (11.07.) Kopējais jūlija vidējais rādītājs bija 16,3 °C (-1,0 °C zem normas). Jūlijā bija aptuveni normāls nokrišņu daudzums (74,3 mm jeb 95 % no normas). 2023. gada augusts bija īpaši mitrs un silts. Faktiski 4. mitrākais un 8. siltākais novērojumu vēsturē. Vidējā temperatūra bija 17,9 °C (1,3 °C virs normas). Maksimālā temperatūra bija 29,5 °C (16.08.) un minimālā 7,5 °C (12.08.).

Mākslīgās inficēšanas metodika

Mākslīgo inficēšanu ar *Fusarium* ģints sēnēm, kas ir potenciālas mikotoksīnu veidotājas, integrētajā un bioloģiskajā izmēģinājumā veica 27. jūnijā auzu ziedēšanas sākumā (AE 61-63) – infekcijas materiāla sagatavošanas dienā. Pirms inficēšanas izmēģināju nosmidzināja ar ūdeni (300 L ha⁻¹), labvēlīgu apstākļu slimības attīstībai radīšanai.

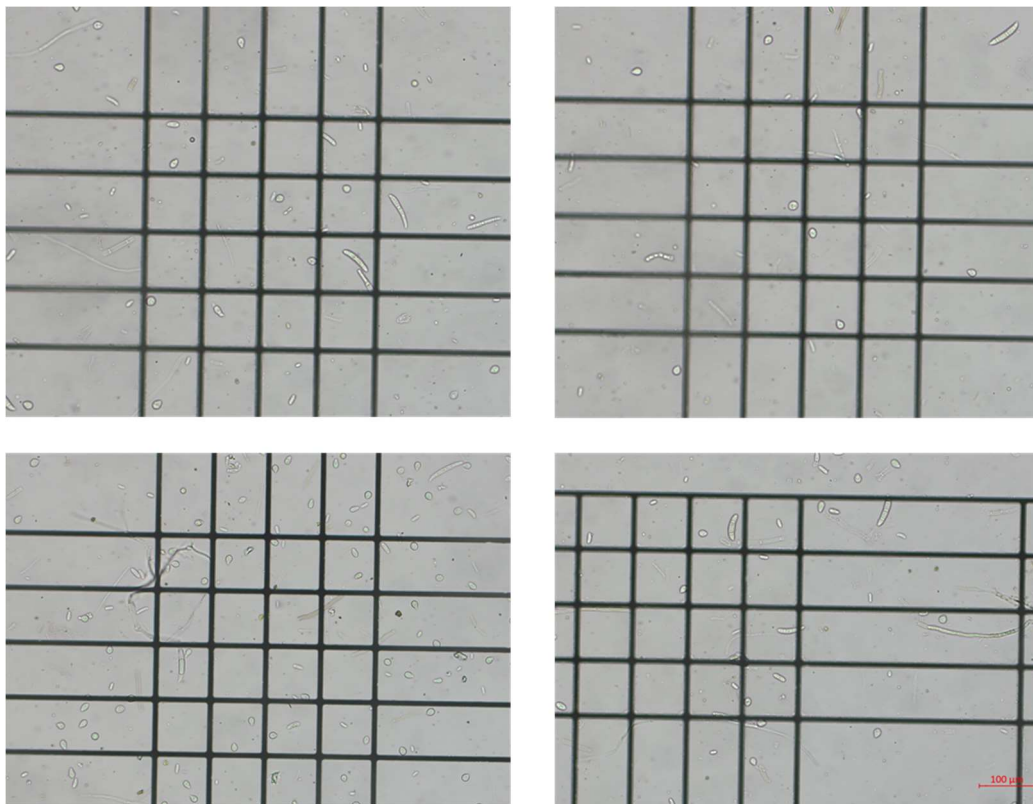
Mākslīgajai infekcijai izmantoja molekulāri-ģenētiski identificētus *Fusarium graminearum*, *F. poae*, *F. oxysporum* un *F. culmorum* izolātus, kas iegūti no auzām iepriekšējos pētījumos.

Petri platē ar sēnes izolātu ielēja apmēram 10 mL sterilu ūdeni. Ar plastmasas karoti vai spatulu saudzīgi nokasīja sēnes micēliju (bez barotnes). Nokasīto micēliju ar visu šķidrumu no Petri plates ielēja vārglāzē, papildināja ar destilētu ūdeni (minimālais daudzums 150 mL), un blenderēja. Sietiņā palikušo micēliju (to ar plastmasas spatulu izkasa no sietiņa) ielika atpakaļ tukšā vārglāzē, uzlēja nedaudz nokāsto šķidrumu un atkal blenderēja. Atkārtoja procesu, līdz sietiņā nepaliek micēlija rupjā frakcija.

Caur četrkārtīgi salocītu sterilu marli izkasa visu šķidrumu. Marlē palikušo micēliju nokasīja, vēlreiz caur šo marli izkasa šķidrumu un sablenderēja. Pēc tam vēlreiz izkasa šķidrumu caur 8 kārtās salocītu tīru marli. Kāšanas procesu atkārtoja, līdz nekas nepalika marlē.

Noteica koloniju veidojošo vienību (turpmāk – KVV) skaitu, izmantojot Gorjajeva skaitāmo kameru (skat. 1.3. att.). Kopumā ieguva 600 mL inficēšanas šķidrumu ar KVV 940*10⁵

1mL⁻¹. Infekcijas materiālu atšķaidīja ar nepieciešamo ūdens daudzumu, lai apsmidzinātu visu Integrētā un Bioloģiskā izmēģinājumu platību. KVV izsmidzinātajā šķīdumā = $27 \cdot 10^5$ uz 1 mL.



1.3. attēls. *Fusarium* ģints sēņu infekcijas materiāla koncentrācijas jeb KVV noteikšana Gorjajeva kamerā.

Laukdīdzības novērtēšana

Laukdīdzības vērtēšanu veica pamatojoties uz EPPO standartu PP1/019(4) par sēklas izcelsmes graudaugu slimībām. Vērtēšanu veica vienu reizi sezonā auzu 2 līdz 5 lapu stadijā (AE 12-15). Sēklu apstrādes izmēģinājumā laukdīdzība noteikta 22. maijā, integrētajā izmēģinājumā - 18. maijā, bioloģiskajā izmēģinājumā – 12. maijā. Šim nolūkam nejausi izvēlējās desmit 1 metru garas rindiņas katrā izmēģinājumu lauciņā. Noteica uzdīgušo augu skaitu katrā rindiņā. Aprēķināja vidējo sadīgušo augu skaitu uz 1 m augu rindiņā.

Lapu zaļā laukuma novērtēšana

Lapu zaļās virsmas laukumu vērtēja uz 10 randomizēti izvēlētu augu karoglapām (F1) un uz otrās lapas (F2) katrā lauciņā. Noteica vizuāli %-os. Uzskaiti veica vienu reizi sezonā auzu piengatavības beigās – dzeltengatavības sākumā (AE 75-85). Sēklu apstrādes izmēģinājumā lapu zaļais laukums noteikts 26. jūlijā, bioloģiskajā izmēģinājumā – 14. jūlijā un integrētajā izmēģinājumā – 28. jūlijā.

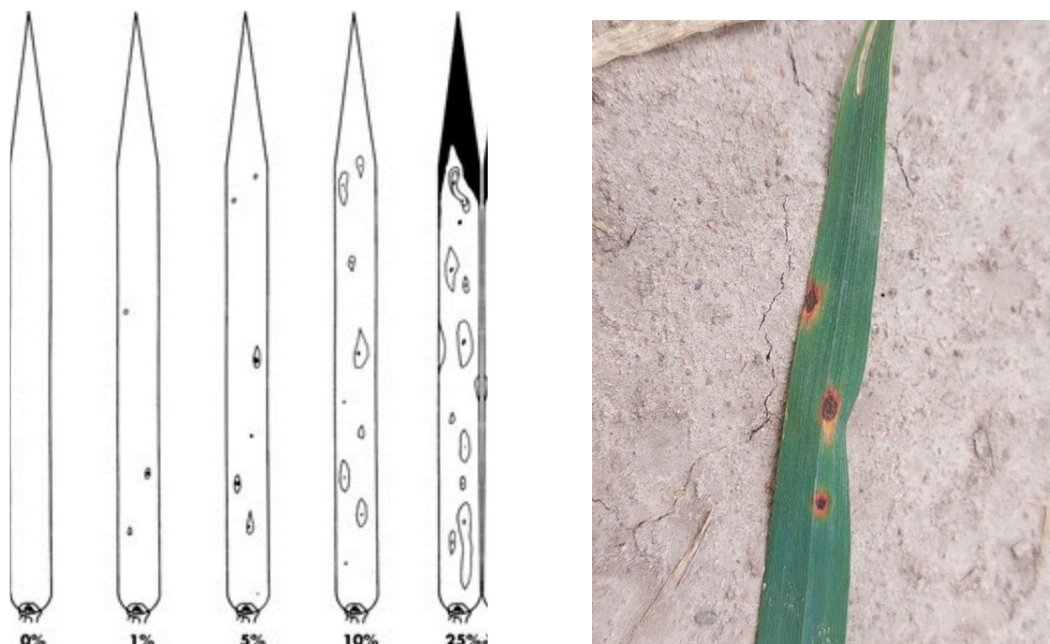
Hlorofila satura (SPAD) mērījumi

Mērījumus veica ar rokas atLeaf hlorofila mērītāju (kas apraksta augu veselību, pamatojoties uz hlorofila saturu lapās) (atLeaf, 2023). Veica ziedēšanas sākumā (AE 61-63) uz 10 nejausi

izvēlētu augu karoglapām katrā lauciņā. Hlorofila saturs noteikts integrētajā un bioloģiskajā izmēģinājumā 28. jūnijā.

Slimību uzskaites

Integrētajā un bioloģiskajā izmēģinājumā uzskaitīja auzu lapu slimības 11. jūlijā (AE 77), 25. jūlijā (AE 73-85) un 2. augustā (AE 83) tikai sēklu apstrādes un integrētajā izmēģinājumā, jo bioloģiskajā vairums augi bija sasnieguši dzeltengatavību (AE 85) un uzskaiti vairs nebija iespējams veikt. Uzskaites veica uz 10 augiem lauciņā, uz trīs dažādiem lapu līmeņiem. Lai novērtētu mikrobioloģisko preparātu un sintētisko fungicīdu stratēģiju, kā arī potenciālo sēklu apstrādes efektivitāti lapu slimību ierobežošanai, visos izmēģinājumos uzskaitīja auzu lapu brūnplankumainību, ier. *Pyrenophora chaetomioides* (iepriekšējais nosaukums *Pyrenophora avenae*), kuras rezultātā uz lapām sākumā veidojas nelieli tumši brūni plankumi ar gaišāku vidu. Ap plankumiem veidojas sarkanbrūnas apmales, palielinoties tie saplūst, veidojot atmirušu audu plankumus. Uzskaitē veikta atbilstoši EPPO vadlīnijai PP 1/26(4) par lapu un vārpu slimību uzskaiti (1.4. att.). Uzskaites laikā tika fiksētas arī auzu vainagrūsas (*Puccinia coronata*) pazīmes. Vārpu fuzariozes pazīmes uz lauka netika novērotas.



1.4. attēls. Auzu lapu slimību vērtēšanas skala (pa kreisi) un auzu lapu brūnplankumainības pazīmes (pa labi).

Ražas novākšana, kvantitatīvo un kvalitatīvo parametru noteikšana

Raža 17. augustā novākta ar izmēģinājumu kombainu Wintersteiger Delta (darba platums 2.3 m, aprīkots ar HarvestMaster™ Grain Gage®) kultūraugu gatavības fāzē, nosakot katru lauciņa ražu (kombaina svāri) un mitrumu noteica ar analizatoru MC2000 (OHAUS®) (intervāls 3-45%, precizitāte 0.1%, kalibrēta Stendes PC Graudu tehnoloģijas un agroķīmijas laboratorija). Graudu paraugus tīrīja uz garenacu sietiem 1.8 x 20 mm, graudu frakcijas nosvēra uz elektroniskajiem svāriem A&D EK-6100i (6000g x 0.1g) un aprēķināja preču produkcijas iznākumu (%). TGM noteikšanai graudus skaitīja ar graudu skaitītāju Contador Pfeuffer un nosvēra uz laboratorijas svāriem Scaltec (200 x 0.01g). Ar Infratec Nova, noteikts graudu mitrums

(%), kopproteīna saturs (%), cietes saturs (%), Beta glikānu saturs (%), tauku saturs (%) un tilpummasa (kg hl^{-1}).

Datu statistiskā analīze

Lauku izmēģinājumu datu statistiskajai analīzei izmantoja ARM 2022.5 datorprogrammu. Ierobežošanas stratēģijas analizētas, izmantojot viena faktora dispersijas analīzi (ticamība līmenis 95%), bet šo stratēģiju efektivitātes atšķirību būtiskums noteikts, izmantojot MBS testu (*LSD post-hoc test*).

1.2. Rezultāti un diskusija

1.2.1. Sēkļu apstrādes izmēģinājums auzu sējumā

Laukdīdžība

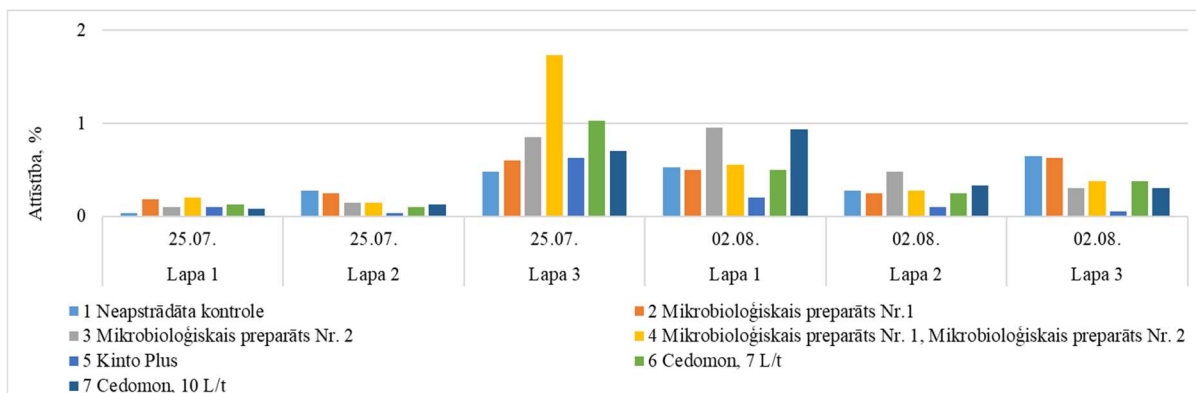
Sadīgušo augu skaits kontrolē vidēji bija 44,5 uz 1 m rindas, apstrādātajos variantos 42,5-46,9. Būtiskas atšķirības starp variantiem netika konstatētas.

Lapu zaļais laukums

Lapu zaļais laukums 26. jūlijā kontrolē karoglapai (F1) vidēji bija 90%, apstrādātajos variantos 90-94%, bez būtiskas atšķirības starp variantiem. Uz otrās lapas (F2) kontrolē zaļais laukums bija 97%, apstrādātajos variantos 96-98%, bez būtiskas atšķirības starp variantiem.

Auzu lapu brūnplankumainības attīstības pakāpe izmēģinājumā

Sēkļu apstrādes izmēģinājumā auzu lapu brūnplankumainības attīstības pakāpe bija zema līdz 2% uz 3. lapas 1. uzskaites laikā, bez būtiskām atšķirībām starp variantiem (1.5. attēls). Uzskaitē, kas veikta 2. augustā vērojama tendence, ka visvairāk slimības attīstību samazināja ķīmiskā kodne Kinto Plus, tomēr, ņemot vērā nelielo slimības izplatību sausajos 2023. gada veģetācijas sezonas laika apstākļos, nevar izdarīt secinājumus par atsevišķu sēkļu apstrādes preparātu efektivitāti lapu slimību ierobežošanai.



1.5. attēls. Auzu lapu brūnplankumainības attīstība sēkļu apstrādes izmēģinājumā.

Ražas rezultāti

Ražu izmēģinājumā vāca 17. augustā. Kopumā izmēģinājumā auzu ražība bija zema, kontrolē sasniedzot 2,52 t/ha, apstrādātajos variantos 2,45-2,88 t/ha, bez būtiskas atšķirības starp variantiem. Tendence augstākai ražai – 2,88 t/ha bija variantā, kur sēklas apstrādātas ar mikrobioloģisko preparātu Cedomon 10 L/t. Tūkstoš graudu masa bija 31,84-32,86 g, bez būtiskas atšķirības starp variantiem. Arī pārējie graudu kvalitatīvie parametri, kas norādīti 1.6. tabulā bija līdzīgi kontrolē un dažādos apstrādes variantos un būtiski savā starpā neatšķīrās.

1.6. tabula.

Ražas parametri sēklu apstrādes izmēģinājumā

Nr.	Variants	Deva,	Raža, t/ha	1000 graudu masa, g	Proteīns, %	Ciete, %	Tipummasa, g/hl	Beta glikāns, %	Tauki, %
		L vai kg/t vai ha							
1	Neapstrādāta kontrole	-	2.52	32.01	13.74	43.01	48.12	2.82	5.95
2	Mikrobioloģiskais preparāts Nr.1	10,25	2.61	32.37	13.59	43.51	48.23	2.75	5.38
3	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 2	17	2.74	32.82	13.62	43.21	48.05	2.78	5.13
4	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 1	10,25	2.47	32.86	13.64	42.72	48.18	2.83	5.62
	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 2	17							
5	Kinto Plus	1,5	2.45	31.84	13.55	42.6	47.45	2.76	5.47
6	Cedomon	7	2.46	32.62	13.79	43.77	48.02	2.79	5.58
7	Cedomon	10	2.88	32.64	13.86	41.7	48.8	2.91	5.77

1.2.2. Integrētais izmēģinājums auzu sējumā

Laukdīdzība

Sadīgušo augu skaits kontrolē vidēji bija 33,6 uz 1 m rindas, apstrādātajos variantos 31,6-33,6. Būtiskas atšķirības starp variantiem netika konstatētas.

Lapu zaļais laukums

Lapu zaļais laukums 28. jūlijā kontrolē karoglapai vidēji bija 87%, apstrādātajos variantos 88-91%, bez būtiskas atšķirības starp variantiem. Uz 2. lapas kontrolē zaļais laukums bija 94%, apstrādātajos variantos 93-95%, bez būtiskas atšķirības starp variantiem.

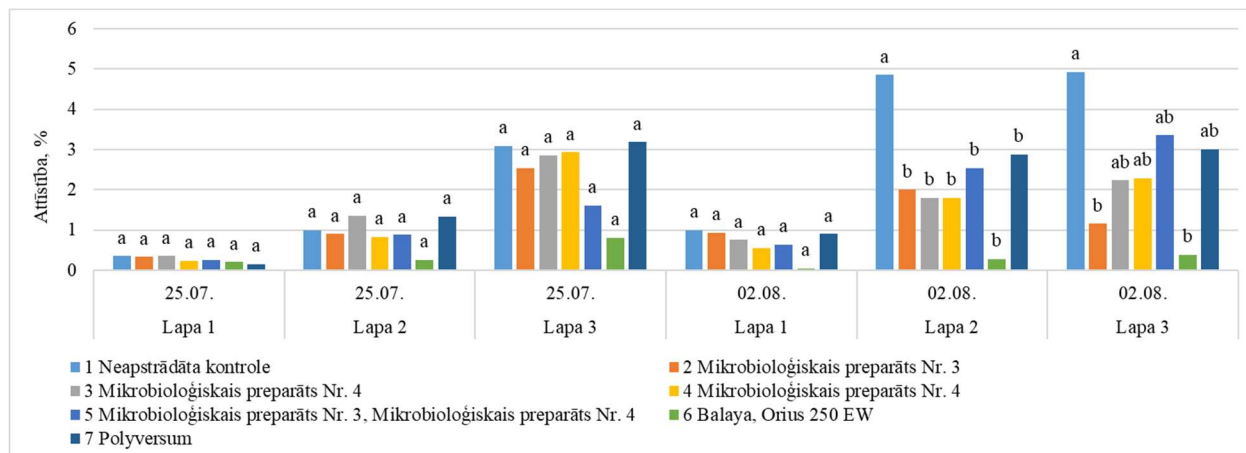
Hlorofila saturs

Hlorofila saturs 28. jūlijā kontrolē vidēji bija 68,2 SPAD vienības, apstrādātajos variantos 67,4-68,4, bez būtiskas atšķirības starp variantiem.

Auzu lapu brūnplankumainības attīstības pakāpe izmēģinājumā

Ņemot vērā vēsos un sausos laika apstākļus augu veģetācijas laikā aprīlī, maijā un jūnijā, auzu lapu brūnplankumainības pazīmes parādījās vēlu – jūnija beigās. Pirmajā veiktajā uzskaitē 25. jūlijā, slimības attīstības pakāpe uz 3. lapas atsevišķos variantos sasniedza 3% (1.6. attēls). Zemākā attīstības pakāpe gan uz 2., gan 3. lapas bija variantā, kur izmantoti sintētiskie fungicīdi, bet bez būtiskas atšķirības no pārējiem variantiem. Būtiskas atšķirības parādījās uzskaitē, kas veikta 2. augustā, uz 2. lapas būtiski zemāka slimības attīstības pakāpe bija visos apstrādātajos variantos salīdzinājumā ar kontroli, kurā attīstība sasniedza gandrīz 5%. Uz 3. lapas būtiski atšķīrās variants, kur izmantots Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3 karoglapas attīstības laikā AE 39 un

variants, kur izmantoti sintētiskie fungicīdi karoglapas attīstības AE 39 un ziedēšanas laikā AE 63-65. Uz karoglapas slimības attīstības pakāpe abās uzskaites reizēs bija zema līdz 1%, bez būtiskas atšķirības starp variantiem.



1.6. attēls. Auzu lapu brūnplankumainības attīstība integrētajā izmēģinājumā.

Pirmās auzu vainagrūsas (*Puccinia coronata*) pazīmes uz auzu lapām integrētajā izmēģinājumā novērotas 25. jūlijā, nākamajā uzskaitē slimības izplatība bija nedaudz pieaugusi, bet vienalga saglabājās zemā līmenī (1.7. attēls).



1.7. attēls. Augšpusē - auzu lapu brūnplankumainība, apakšpusē - auzu vainagrūsa.

Lai arī 12. jūnijā veica smidzinājumu ievu-auzu laputs ierobežošanai, kaitēkļu invāzija perēkļveidīgi turpinājās, iespējams, ietekmējot izmēģinājumā graudu kvalitāti (1.8. attēls).



1.8. attēls. Ievu-auzu laputs uz auzu skarām un graudiem integrētajā izmēģinājumā.

Ražas rezultāti

Ražu izmēģinājumā vāca 17. augustā. Kopumā izmēģinājumā auzu ražība bija zema, kontrolē sasniedzot 3,09 t/ha, apstrādātajos variantos 2,81-3,19 t/ha, bez būtiskas atšķirības starp variantiem. Tūkstoš graudu masa bija 34,05-34,69 g, bez būtiskas atšķirības starp variantiem. Arī pārējie graudu kvalitatīvie parametri, kas norādīti 1.7. tabulā bija līdzīgi kontrolē un dažādos apstrādes variantos un būtiski savā starpā neatšķīrās.

1.7. tabula

Ražas parametri integrētajā izmēģinājumā

Nr.	Variants	Deva,	Raža, t/ha	1000 graudu	Proteīns, %	Ciete, %	Tipummasa, g/hl	Beta glikāns,	Tauki, %
		L vai kg/ha							
1	Neapstrādāta kontrole	-	3.09	34.33	13.65	44.91	52.83	3.14	5.02
2	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3	10	2.92	34.66	13.51	44.66	52.49	3.17	6.1
3	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	10	2.92	34.69	14	43.86	52.94	3.13	5.28
4	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	10	3.12	34.55	14.06	43.28	52.97	2.99	4.67
5	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3	10	3.11	34.58	13.87	42.26	53.08	3.08	6.5
	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	10							
6	Balaya	0,5	2.81	34.05	13.83	43.13	51.51	3	5.59
	Orius 250 EW	1,0							
8	Polyversum	0,1	3.19	34.34	13.83	47.12	52.57	3.08	5.33

1.2.3. Bioloģiskais izmēģinājums auzu sējumā

Laukdīdžība

Sadīgušo augu skaits kontrolē vidēji bija 32,5 uz 1 m rindas, apstrādātajos variantos 28,98-32,8. Būtiskas atšķirības starp variantiem netika konstatētas.

Lapu zaļais laukums

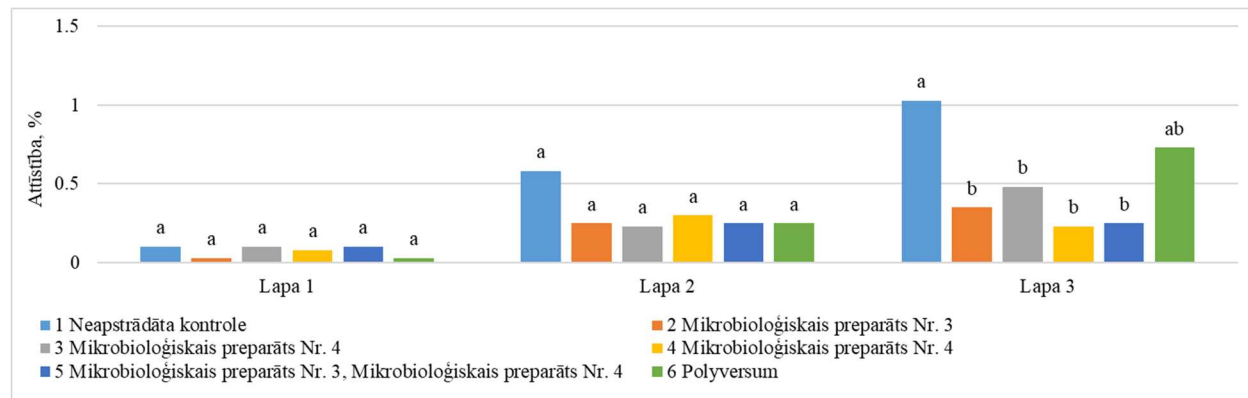
Lapu zaļais laukums 28. jūlijā kontrolē karoglapai vidēji bija 91%, apstrādātajos variantos 91-93%, bez būtiskas atšķirības starp variantiem. Uz 2. lapas kontrolē zaļais laukums bija 93%, apstrādātajos variantos 91-94%, bez būtiskas atšķirības starp variantiem.

Hlorofila saturs

Hlorofila saturs auzu lapās 28. jūlijā kontrolē vidēji bija 56.2 SPAD vienības, apstrādātajos variantos 55,5-57,4, bez būtiskas atšķirības starp variantiem.

Auzu lapu brūnplankumainības attīstības pakāpe izmēģinājumā.

Bioloģiskajā izmēģinājumā auzu lapu brūnplankumainības attīstības pakāpe bija zema līdz 1% kontrolē uz 3. lapas (1.8. attēls). Lai arī starp variantiem uz 3. lapas parādījās būtiskas atšķirības, ņemot vērā nelielo slimības izplatību, nevar izdarīt secinājumus par atsevišķu preparātu efektivitāti.



1.8. attēls. Auzu lapu brūnplankumainības attīstība bioloģiskajā izmēģinājumā 11. jūlijā.

Bioloģiskajos graudaugu sējumos trūkst preparātu un zināšanu par kaitēkļu ierobežošanu. Ņemot vērā jūnija sākumā novēroto ievu-auzu laputs invāziju bioloģiskajā auzu sējumā ierīkotajā izmēģinājumā, nākamajā gadā plānojam izmēģinājumā iekļaut variantus šī kaitēkļa ierobežošanas paņēmieni pārbaudei.

Ražas rezultāti

Ražu izmēģinājumā vāca 17. augustā. Kopumā izmēģinājumā auzu ražība bija zema, kontrolē sasniedzot 2,59 t/ha, apstrādātajos variantos 2,56-2,76 t/ha, bez būtiskas atšķirības starp variantiem. Tūkstoš graudu masa bija 33,0-34,1 g, bez būtiskas atšķirības starp variantiem. Arī pārējie graudu kvalitatīvie parametri, kas norādīti 1.8. tabulā bija līdzīgi kontrolē un dažādos apstrādes variantos un būtiski savā starpā neatšķīrās.

1.8. tabula

Ražas parametri bioloģiskajā izmēģinājumā

Nr.	Variants	Deva,	Raža,	1000 graudu	Proteīns,	Ciete,	Tipummasa,	Beta	Tauki,
		L vai kg/ha							
1	Neapstrādāta kontrole	-	2.59	33.3	12.0	44.7	51.4	3.2	6.2
2	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3	10	2.76	33.6	11.9	45.6	52.3	3.1	6.4
3	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	10	2.62	33.0	12.1	45.5	51.7	3.2	6.2
4	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	10	2.75	33.8	11.8	46.1	52.3	3.2	6.4
5	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3	10	2.66	33.3	12.0	46.2	52.1	3.1	5.8
	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	10							
6	Polyversum	0,1	2.56	34.1	12.1	44.3	52.5	3.3	6.6

1.3. Secinājumi

1. 2023. gada veģetācijas sezonā aprīlis, maijs un jūnijs bija sausi, līdz ar to nebija lapu slimības veicinoši apstākļi, izmēģinājumos auzu lapu brūnplankumainības attīstības pakāpe bija zema un auzu vainagrūsas bojājumi nenozīmīgi.
2. Sēklu apstrādes izmēģinājumā auzu lapu brūnplankumainības attīstības pakāpe bija zema, tādēļ pēc pirmā izmēģinājuma gada nevar izdarīt secinājumus par atsevišķu sēklu apstrādes preparātu efektivitāti lapu slimību ierobežošanai. Ražas apjomā un kvalitatīvajos parametros būtiskas atšķirības starp variantiem neparādījās.
3. Integrētajā izmēģinājumā būtiskas atšķirības auzu lapu brūnplankumainības attīstības pakāpē parādījās uzskaitē, kas veikta 2. augustā, uz 2. lapas būtiski zemāka slimības attīstības pakāpe bija visos apstrādātajos variantos salīdzinājumā ar kontroli, kurā slimības attīstības pakāpe sasniedza gandrīz 5%. Ražas apjomā un kvalitatīvajos parametros būtiskas atšķirības starp variantiem neparādījās.
4. Bioloģiskajā izmēģinājumā uzskaitē uz 3. lapas parādījās būtiskas atšķirības auzu lapu brūnplankumainības attīstības pakāpē starp kontroli un apstrādātajiem variantiem, bet, ņemot vērā nelielo slimības izplatību, pēc pirmā izmēģinājuma gada nevar izdarīt secinājumus par atsevišķu preparātu efektivitāti. Ražas apjomā un kvalitatīvajos parametros būtiskas atšķirības starp variantiem neparādījās.
5. Kopumā augstākās ražas iegūtas integrētajā izmēģinājumā, zemākie proteīna rādītāji konstatēti bioloģiskajā izmēģinājumā, savukārt šajā izmēģinājumā bija nedaudz augstāks tauku saturs. Tūkstots graudu masas, tilpummasas un beta-glikāna rādītāji zemākie bija sēklu apstrādes izmēģinājumā.

2. Mikotoksīnu noteikšana

2.1. Mikotoksīnu analīžu veikšanas metodika

Pētījuma laikā noteikts toksīnu T2/HT2 un zearelona (turpmāk – ZEN) daudzums auzu graudos, plānots noteikt arī deoksinivalenola (turpmāk – DON) daudzumu. Mikotoksīnu noteikšanai izmatots Rosa T2/HT2 Quantitative Test for Feed and Grain, Rosa WET-S5 Zearalenone Quantitative Test for Feed and Grain, kā arī tiks izmantots Rosa WET-S5 DON Quantitative Test for Feed and Grain.

Auzu graudi no katra izmēģinājuma varianta samalti līdz miltu konsistencei izmantojot šim nolūkam paredzētu ierīci Laboratory mill 3100. Katra mikotoksīna analīžu veikšanai izmantoti 50g auzu graudu parauga.

Lai noteikt ZEN daudzumu graudos, katram paraugam pievienota viena paciņa Wet-S Extraction Powder un 150ml destilēta ūdens. Paraugšs maisīts 2,5min, pēc tam filtrēts caur filtrpapīru. 1,5ml no iegūtā šķīduma ielieti stobriņos un ievietoti centrifūgā uz 10s. 100µl no centrifūgētā šķīduma sajaukti ar 900µl ZEARQ-WETS5 Dilution Buffer. 300µl iegūtā šķīduma uzpilināti uz ZEARQ-WETS5 testa sloksnes (strip), pēc tam tā ievietota ROSA inkubatorā +45 °C uz 5 minūtēm. Rezultāts nolasīts izmantojot ROSA-M-Reader.

T2/HT2 satura graudos noteikšanai, izmantoja līdzīgu metodiku kā ZEN, galvenās atšķirības: 1) ūdens vietā izmantoja 100ml 70% metanolu; 2) izmantoja citu buferi - 1000µl T2/HT2 Dilution Buffer. Turpmāk 300µl iegūtā šķīduma uzpilināja uz T2/HT2 testa sloksnes (strip), un ievietoja ROSA inkubatorā +45 °C uz 5 minūtēm. Rezultātu nolasīja izmantojot ROSA-M-Reader.

DON satura graudos noteikšanai, plānots izmantot līdzīgu metodiku kā ZEN, galvenās atšķirības: 1) ūdens tilpums 250 ml; 2) tiks izmantots cits buferis - 550µl DONQ-WETS5 Dilution Buffer. Turpmāk 300µl iegūtais šķīdums tiks uzpilināts uz DONQ-WETS5 testa sloksnes (strip), un ievietots ROSA inkubatorā +45 °C uz 5 minūtēm. Rezultātu nolasīšanai tiks izmantots ROSA-M-Reader.

2.2. Mikotoksīnu analīžu rezultāti un diskusija

Fusarium ģints sēņu metabolisma rezultātā var graudos veidoties - ZEN, T2, HT2, DON un citi mikotoksīni. Mikotoksīni, atkarībā no uzņemtā daudzuma, patērēšanas ilguma, var izraisīt dažādas veselības problēmas, sākot no gremošanas, nervu sistēmas bojājumiem līdz pat, smagākos gadījumos, nāvei (Zain, 2011).

Ja mikotoksīnu T2/HT2 daudzums graudos pārsniedz atļauto līmeni 750 µg kg⁻¹ un 1000 µg kg⁻¹ (Commission Regulation (EC) No 401/2006), tos lietot uzturā nav ieteicams.

Savukārt mikotoksīnu, smago metālu u.c. nekaitīguma rādītājus nosaka saskaņā ar ES regulas 2023/915 prasībām. Šī regula nosaka, ka **DON** saturs neapstrādātos rudzu graudos nedrīkst pārsniegt 1250 µg kg⁻¹, **auzu graudos – 1750 µg kg⁻¹. ZEN** minimālais pieļaujamais saturs graudos savukārt ir **100 µg kg⁻¹.**

Eiropas komisijas ieteikumā (2013/165/ES) par **T-2 un HT-2** toksīnu klātbūtni labībā un graudaugu produktos noteikts, ka šo toksīnu līmenis neapstrādātos auzu graudos nedrīkstētu pārsniegt **1000 µg kg⁻¹**, bet rudzos 100 µg kg⁻¹.

Auzu graudu paraugos nevienā no izmēģinājumiem netika atrasti ZEN mikotoksīni, ko visbiežāk veido *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium cerealis*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium verticillioides* un *Fusarium incarnatum* sēnes (Ropejko un Twarużek, 2021).

Visos paraugos no izmēģinājumiem noteica mikotoksīnu T-2 un TH-2 (2.1. tabula), kuru visbiežāk veido *Fusarium* ģints suga *F. langsethiae*. Citu valstu pētījumos ir atrasta augsta pozitīva korelācija starp *F. langsethiae* sastopamību un mikotoksīnu T-2 un TH-2 veidošanos auzu graudos (Pettersson et al., 2018; Hjelkrem et al., 2018). Jāuzsver, ka arī šī konkrētā pētījuma ietvaros no 2020.-2021. gadā Latvijā ievāktajos auzu paraugos tika identificēts *F. langsethiae*. Mikotoksīnu T-2 un TH-2 vēsos un mitros apstākļos uz lauka var veidot arī citas sugas, piemēram, *F. poae* un *F. sporotrichioides*. Sēklu apstrādes izmēģinājumā lielākā mikotoksīnu koncentrācija noteikta kontroles variantā – 124 $\mu\text{g kg}^{-1}$, apstrādātajos variantos koncentrācija bija no 13-47 $\mu\text{g kg}^{-1}$, vidējā koncentrācija bija 47 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Jāatzīmē, ka sēklu apstrādes izmēģinājumā T-2 un TH-2 koncentrācija bija zemāka, salīdzinot ar abiem pārējiem izmēģinājumiem, kas iespējams skaidrojams ar to, ka šajā izmēģinājumā neveica mākslīgo inficēšanu ar *Fusarium* sugu maisījumu, kura sastāvā bija arī *F. poae*. Auzu paraugos no izmēģinājuma, kas bija iekārtots integrētajā sējumā, T-2 un TH-2 koncentrācija variantos bija 62-225 $\mu\text{g kg}^{-1}$, vidēji 115 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Bioloģiskajā izmēģinājumā T-2 un TH-2 koncentrācija bija visaugstākā no 129-250 $\mu\text{g kg}^{-1}$, vidēji 183 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Abi šie izmēģinājumi auzu ziedēšanas laikā tika apstrādāti ar *Fusarium* sugu *Fusarium graminearum*, *F. poae*, *F. oxysporum* un *F. culmorum* maisījumu. Lai arī mikotoksīni T-2 un TH-2 paraugos tika noteikti, nevienā no paraugiem tie nepārsniedza pieļaujamo koncentrāciju 1000 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Salīdzinoši Norvēģijā pētījumā par mikotoksīniem auzu paraugos T-2 un TH-2 noteiktais saturs vidēji bija 372 $\mu\text{g kg}^{-1}$, līdz maksimāli 2998 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 9% gadījumu pārsniedzot pieļautās normas. Pētījumā analizēta arī laika apstākļu ietekme uz T-2 un TH-2 veidošanos. Mitri un mēreni silti apstākļi pirms ziedēšanas bija saistīti ar paaugstinātu T-2 un TH-2 uzkrāšanos graudos, savukārt zema vai paaugstināta gaisa temperatūra šajā pašā periodā bija saistīta ar samazinātu mikotoksīnu veidošanos. Silts un mitrs laiks pēc ziedēšanas, kā arī vēss un mitrs laiks tuvu ražas novākšanai palielināja T-2 un TH-2 līmeņa risku, savukārt silta temperatūra, bez lietus piengatavības stadijā samazināja T-2 un TH-2 uzkrāšanās risku auzu graudos (Hjelkrem et al., 2018). Ņemot vērā šos novērojumus un izteikti sausos laika apstākļus 2023. gadā auzu ziedēšanas laikā rezultējās salīdzinoši nelielās mikotoksīnu T-2 un TH-2 koncentrācijās.

Pētījuma ietvaros paredzēts noteikt arī mikotoksīnu deoksinivalenolu (DON), diemžēl testu piegāde aizkavētās, līdz ar to analīzes plānots veikt decembrī, iekļaujot rezultātus par DON nākamā gada pētījuma atskaitē. Mikotoksīnu DON veido galvenokārt *Fusarium graminearum* (Kushiro, 2008). *F. graminearum* un *F. culmorum* atzītas par galvenajām DON mikotoksīna veidotājām auzās Krievijā (Gagkaeva et al., 2018).

2.1. tabula

Mikotoksīnu daudzums sēklu apstrādes, integrētajā un bioloģiskajā lauka izmēģinājumā

Nr.	Variants	Zeralenone (ZEN), $\mu\text{g kg}^{-1}$	T2/TH2, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Deoxinivalenol (DON), $\mu\text{g kg}^{-1}$
1	Neapstrādāta kontrole	0	124	-
2	Mikrobioloģiskais preparāts Nr.1	0	41	-
3	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 2	0	25	-
4	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 1; Nr. 2	0	13	-
5	Kinto Plus	0	39	-
6	Cedomon	0	45	-
7	Cedomon	0	47	-
1	Neapstrādāta kontrole	0	74	-
2	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3	0	116	-

3	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	0	135	-
4	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	0	82	-
5	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3; Nr. 4	0	112	-
6	Balaya; Orius 250 EW	0	225	-
7	Polyversum	0	62	-
1	Neapstrādāta kontrole	0	242	-
2	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3	0	129	-
3	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	0	129	-
4	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 4	0	169	-
5	Mikrobioloģiskais preparāts Nr. 3; Nr. 4	0	250	-
6	Polyversum	0	181	-

3. Sēklu dīdzības un mikrobioloģiskais tests

3.1. Sēklas materiāla dīdzības noteikšana

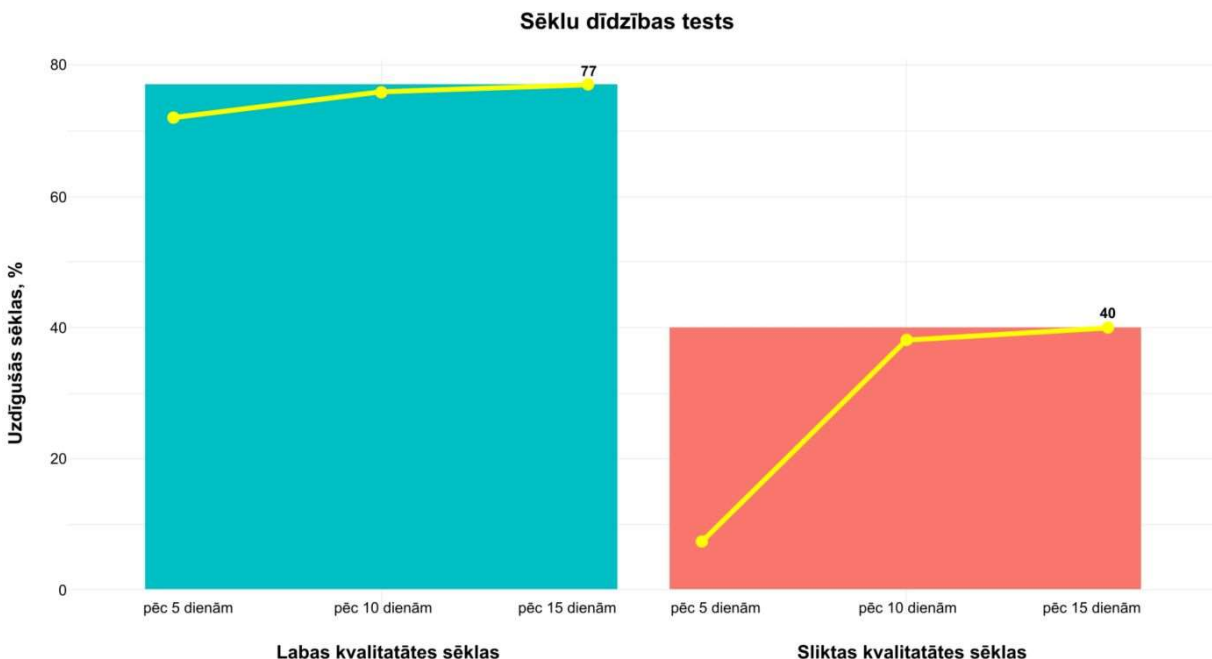
Metodika

Lai noskaidrotu patogēnu iespējamo izplatību ar sēklām lauka un siltumnīcu izmēģinājumos izmantoja speciāli izvēlētas labas kvalitātes un sliktas kvalitātes sēklas. Pētījumu ietvaros veica sēklu dīdzības noteikšanu veica pamatojoties uz Nacionālās sēklu kontroles laboratorijas 28.03.2011. izstrādāto metodiku. Graudi diedzēti filtrpapīra ruļļos. Dīdzības noteikšanai no sēklas partijas (kvalitatīvas un nekvalitatīvas sēklas) nejauši izvēlēti 100 graudi. Taisnstūrveida filtrpapīra piegrieztnes samitrinātas ar krāna ūdeni un izklātas uz sausas paplātes. Ar pincetes palīdzību graudi vienmērīgi izvietoti tā, lai tie savā starpā nesaskartos. Graudi pārsegti ar vairākām samitrināta filtrpapīra kārtām, malas nolocītas un safitas ruļļos. Uz papīra etiķetes ar ūdensizturīgu zīmuli uzrakstīja informāciju par sēklu paraugu. Etiķete ar gumiju piestiprināta rullim. Ruļļi ielikti noslēgtos polietilēna maisos un novietoti diedzējamā skapī (20 °C).

Dīgstu novērtēšana auzām veikta pēc 5, 10 un 15 dienām. Uzskaites laikā saskaitīti normālie dīgsti un nedzīvās sēklas. Dīdzība aprēķināta kā attiecība starp dzīvotspējīgiem un neizdīgušiem graudiem.

Rezultāti

Sēklu dīdzības testa rezultāti uzrādīja atšķirības starp labas kvalitātes sēklām, kur dīdzība pēc 15 dienām sasniedza 77% un sliktas kvalitātes sēklām, kur šis rādītājs sasniedza tikai 40%, (3.1. attēls).



3.1. attēls. Sēklu dīdzības testa rezultāti.

3.2 Sēklas materiāla inficētības noteikšana.

Metodika

Inficētības līmeni noteica gan labas, gan sliktas kvalitātes sēklām. Testa veikšanai (katram variantam) paņēma nejauši izvēlētu 100 sēklu paraugu. Paraugu savukārt sadala 4 atkārtojumos – 25 sēklas atkārtojumam. Sēklas 2 minūtes sterilizē 1.25% NaOCl šķīdumā, trīs reizes noskalo sterilā ūdenī. Novieto uz sterila filtrpapīra, lai notecinātu lieko šķidrumu. Pārgriež sēklas uz pusēm. Uz katras Petri plates (90 mm) ar mākslīgo barotni (PDA) uzliek piecu sēklu puses. Katrā atkārtojumā 5 Petri plates.

Uzsētās Petri plates ievieto termostatā +23 °C, 80% RH. Pēc 3 dienām pirmo reizi apskata plates ar sēnotni, atkārtoti ik pēc 3 dienām, līdz sēnotne piepildījusi visu Petri plati. Veic identifikāciju (nosaka sēnes piederību ģintij) pēc morfoloģiskām pazīmēm un mikroskopējot. Ja nepieciešams ģints precizēšanai, pārsēj tīrkultūras iegūšanai. Aprēķina sēņu ģinšu izplatību (%), katram atkārtojumam un vidējo izplatību paraugā.

Rezultāti

Sliktas kvalitātes sēklās inficētības līmenis bija no 52 līdz 74 %, vidējais – 61%, no inficētajām sēklām *Fusarium* spp. uzskaitīja no 8 līdz 40 % gadījumu, vidējais 20.5%. Bez *Fusarium* ģints sēnēm, noteica arī *Pyrenophora*, *Alternaria*, *Penicillium* u.c. ģints sēnes. Baktēriju klātbūtni šajā sēklu partijā konstatēja 12-26% gadījumu, kas saglabājušās un savairojušās ilgstoša sēklas materiāla uzglabāšanas laikā.

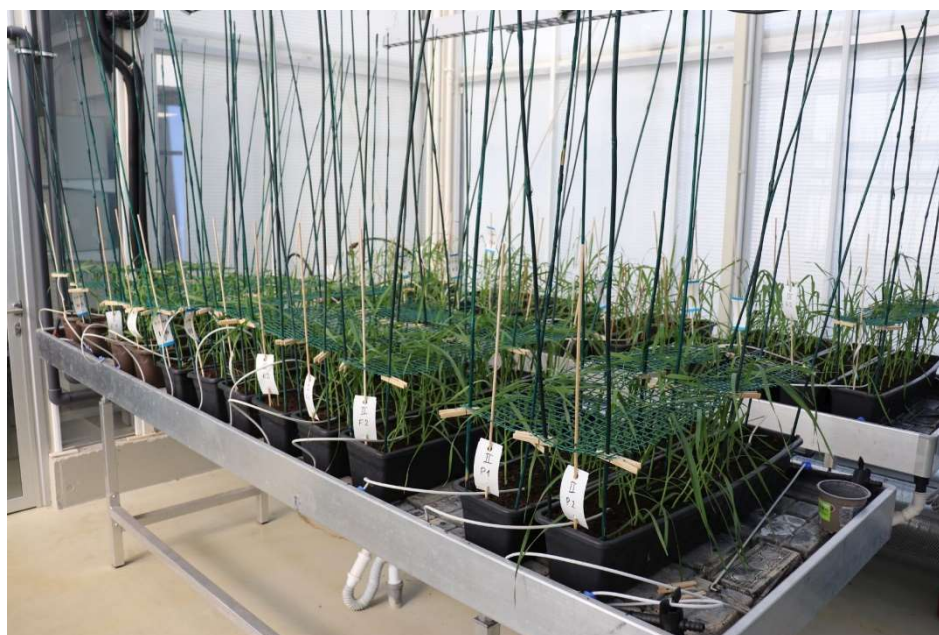
Labas kvalitātes sēklās kopējais inficētības līmenis bija augstāks nekā sliktākās kvalitātes sēklās (80-100%, vidējais 91.5%). *Fusarium* sastopamība šajā sēklu partijā variēja no 24-52% (vidēji 39.5%). Taču jāņem vērā, ka vairākumu no konstatētajām sēnēm var attiecināt uz labi pazīstamiem **sekundārajiem ierosinātājiem un endofītiem** (tādas sēnes, kas dabiski sastopamas uz grauda virsmas vai nevar ierosināt primāro infekciju) : *Penicillium*, *Epicoccum*, daļēji arī *Alternaria* un vairākas *Fusarium* ģints sēnes. *Pyrenophora* ģints sēnes un baktērijas šajā sēklu partijā savukārt bija sastopamas ļoti reti.

4. Siltumnīcas izmēģinājumi

4.1. Izmēģinājuma metodika

Auzu siltumnīcas izmēģinājumu ierīkošanas mērķis bija noskaidrot i) slimības attīstību mākslīgi inficētajiem augiem kontrolētos apstākļos; ii) apbēt hiperspektrālās (turpmāk – HS) analīzes izmantošanu *Fusarium* un *Pyrenophora* ģints sēņu izraisīto slimību noteikšanai.

Eksperimentus uzsāka š g, 16 maijā, kultivēšanu veica 80x18x14 cm konteineros, substrāts – kūdras un smilts maisījums (tilpuma attiecība 6:1), katrā konteinerā iesēja 26 sēklas (13 sēklas divās rindās). Apgaismojums - dabīgs, temperatūras režīms 18-22 °C dienā, 14-18 °C naktī, nodrošināja apstākļiem atbilstošu laistīšanu, minerālo barošanu un nevēlamo slimību un kaitēkļu kontroli (skat. 4.1. att.).



4.1. attēls. Auzu siltumnīcas izmēģinājumi.

Variantu eksperimentālā shēma attēlota 4.1 tabulā, tā izplānota vadoties pēc izmantotā sēklu materiāla un patogēnu mākslīgās inficēšanas pieejas, katram variantam četri atkārtojumi (četri konteineri), konteineru izvietošana līdz mākslīgās inficēšanas posmiem (izņemot inficētās sēklas) kopējā telpā randomizēti, pēc mākslīgās inficēšanas atsevišķās telpās ar ļoti tuviem kultivēšanas apstākļiem.

4.1. tabula.

Auzu siltumnīcas izmēģināju eksperimentālie varianti

N. P. K.	Varianta nosaukums	Sēklu materiāls	Mākslīgā inficēšanas stadija	Slimības novērtēšanas metodes
1.	Kontrole (labas sēklas)	Labas kvalitātes sēklas	-	Slimības uzskaitē un attīstības vērtēšana; inficētības noteikšana dažādās auga daļās; HS bildēšana

2.	Kontrole (sliktas sēklas)	Sliktas kvalitātes sēklas	-	Slimības uzskaitē un attīstības vērtēšana; inficētības noteikšana dažādās auga daļās
3.	Sēklu inficēšana ar <i>Fusarium</i> spp.	Labas kvalitātes sēklas	Sēklas	Slimības uzskaitē un attīstības vērtēšana; inficētības noteikšana dažādās auga daļās; HS bildēšana
4.	Vārpu inficēšana ar <i>Fusarium</i> spp.	Labas kvalitātes sēklas	BBCH 56-58	Slimības uzskaitē un attīstības vērtēšana; inficētības noteikšana dažādās auga daļās; HS bildēšana
5.	Lapu inficēšana ar <i>Pyrenophora chaetomioides</i>	Labas kvalitātes sēklas	BBCH 22-24	Slimības uzskaitē un attīstības vērtēšana; inficētības noteikšana dažādās auga daļās; HS bildēšana
6.	Lapu inficēšana ar <i>Pyrenophora chaetomioides</i>	Labas kvalitātes sēklas	BBCH 37-39	Slimības uzskaitē un attīstības vērtēšana; inficētības noteikšana dažādās auga daļās; HS bildēšana

Augu mākslīgo inficēšanu veica ar *Fusarium* spp.: i) vienam variantam – apstrādāja sēklas; ii) otram variantam – vārpošanas fāzē (BBCH 56-58) un *Pyrenophora chaetomioides* iii) cerošanas fāzē (BBCH 22-24), kā arī iv) karoglapas parādīšanās un attīstības fāzēs (BBCH 37-39), kad izmantoja lielāku infekcijas šķīduma koncentrāciju. Mākslīgajai inficēšanai ar *Fusarium* spp. izmantoja molekulāri-ģenētiski identificētu *Fusarium graminearum*, *F. poae*, *F. oxysporum* un *F. culmorum* izolātu sajaukumu, kas iegūti no auzām iepriekšējos pētījumos. Infekcijas šķīduma pagatavošanas metodika tāda pati kā lauka izmēģinājumos, atšķirās: i) deva – 50 ml uz vienu konteineru (vārpošanas fāzē); ii) pēc apstrādes augiem uzlika polietilēna plēves maisus uz 2 diennaktīm ar nolūku radīt optimālus apstākļus slimības iniciācijai. Mākslīgā inficēšana ar *Pyrenophora chaetomioides* (molekulāri-ģenētiski identificēta) notika pēc līdzīgas metodikas kā ar *Fusarium*, tika pagatavotas inokulācijas šķīdums, deva – 30 ml uz vienu konteineru (BBCH 22-24) un 50 ml uz vienu konteineru (BBCH 37-39), tāpat kā iepriekš pēc inokulācijas augus apsedza ar polietilēna plēves maisiem uz trijām dienām. Mākslīgo inficēšanu veica divas reizes

Auzu augšanas un attīstības procesā regulāri veica augu vizuālo vērtēšanu, atzīmējot novirzes no optimālajiem parametriem u.c. īpašas pazīmes.

Slimības uzskaiti un turpmākās attīstības dinamikas novērojumus uzsāka tiklīdz parādījās pirmie slimības simptomi. Uzskaiti veica visiem augiem katrā konteinerā, līdzīgi kā lauka izmēģinājumos tika ņemtas vērā EPPO vadlīnijas PP 1/26(4) par lapu un vārpu slimību uzskaiti. Siltumnīcas izmēģinājuma beigu posmā, lai pārliecinātos, ka vizuāli fiksētos slimības simptomus izraisa sēņu patogēni, tika veikta sēklu, lapu un sakņu kalu inficētības pārbaude, paņemot tikai tos eksplantus (auga orgānus), kuriem raksturīgi slimības simptomi.

HS bildēšanu veica ar hiperspektrālo kameru Specim IQ, savukārt iegūto attēlu turpmākajai apstrādei un uzglabāšanai izmantoja Specim IQ Studio programmu. Slimības attīstības dinamikas izsekošanai iegūtajās HS bildēs augus īpaši numurēja, pēc iespējas bildēja vienu un tos pašus orgānu, bildēšanas process atspoguļots 4.2. attēlā. Informācija par augu attīstības fāzi, pie kuras uzsāka HS bildēšanu, bildēšanas biežumu un augu orgāniem, kurus bildēja apkopota 4.2. tabulā.

Hiperspektrālās bildēšanas pieeja atkarībā no infekcijas varianta

Varianta nosaukums	HS bildēšanas uzsākšanas fāze (BBCH)	HS bildēšanas biežums	Auga orgāns, kuram veica HS bildēšanu
Kontrole (labas kvalitātes sēklas)	≈ 30	2x nedēļā	lapa, vēlāk vārpa
Sēklu inficēšana ar <i>Fusarium</i> spp.	≈ 30	2x nedēļā	lapa, vēlāk vārpa
Vārpu inficēšana ar <i>Fusarium</i> spp.	≈ 60	3x nedēļā	vārpa
Lapu inficēšana ar <i>Pyrenophora chaetomioides</i> (agrā fāze)	≈ 30	2x nedēļā	lapa
Lapu inficēšana ar <i>Pyrenophora chaetomioides</i> (vēlā fāze)	≈ 40	2x nedēļā	lapa



4.2. attēls. Auzu lapu bildēšana ar hiperspektrālo kameru.

Siltumnīcā veikto izmēģinājumu datu analīzi veica RStudio 2023.09.1 statistiskās apstrādes programmā.

4.2. Rezultāti

Slimības simptomu vizuālo vērtēšanu atkārtoja trīs reizes, pēdējo reizi 62 dienas pēc izmēģinājuma ierīkošanas. Rezultāti apkopoti 4.3. tabulā, kā var redzēt ir atšķirības sēklu dīdzbā starp labas un sliktas kvalitātes sēklām sakrīt ar sēklu dīdzbā testa rezultātiem (3.1. nodaļa). Tomēr, turpmāk kontroles variantā ar sliktas kvalitātes sēklu materiālu, slimības vizuālie simptomi uz graudiem, lapām un sakņu kakla bija zemāki, ko varētu izskaidrot, ar to, ka slimākie augi nemaz neuzdīga.

Sēklu mākslīgā inficēšana ar *Fusarium* spp. diemžēl nerezultējās būtiskā augu slimības izplatības pieaugumā, tam par iemeslu tam varētu būt metodiskās nepilnības inficēšanas procesā, šīs nepilnības tika ņemtas vērā atkārtojot mākslīgās inficēšanas eksperimentus Petri platēs, kur ieguva labākus saslimstības rezultātus, līdz ar to izstrādātos metodiskos uzlabojumus varēs turpmāk izmantot arī siltumnīcas izmēģinājumos. Vārpu inficēšana ar *Fusarium* spp. rezultējās palielinātā slimības izplatībā, ko apstiprināja arī paņemto paraugu mikrobioloģiskā pārbaude. Jāatzīmē, ka tomēr vizuāli slimība galvenokārt novērota uz graudiem, ļoti reti uz lapām. Diemžēl nav zināma šķirnes ‘Lelde’ ieņēmība pret *Fusarium* patogēniem, tāpēc te iespējama diskusija par attiecīgās šķirnes genotipa ietekmi uz slimības attīstības, t. sk. izmēģinājumos iegūtās slimības simptomu īpatnību, ka tā pamatā attīstās uz graudiem, tātad slimība netika novērota smagā formā.

Mākslīgā inficēšana ar *Pyrenophora chaetomioides* dažādās augu attīstības stadijās diemžēl neinicēja pastiprinātu slimības attīstību, šiem variantiem novēroti graudu un lapu slimības simptomi līdzīgi kā pārējiem variantiem, pie kam paņemto eksplantu mikrobioloģiskais tests neuzrādīja *Pyrenophora* ģints patogēnus. Mākslīgajai inficēšanai izmantoja *Pyrenophora chaetomioides* izolātus, kas iegūti no auzām iepriekšējos pētījumos, tiem raksturīga diezgan zema sporulācijas pakāpe, kas varētu izskaidrot mākslīgās inficēšanas neefektivitāti. Veiktie mēģinājumi uzlabot sporulāciju ar dažādu kultivēšanas apstākļu izmaiņu (barotnes sastāvs, apgaismojums), diemžēl nedeva uzlabojumus.

4.3. tabula.

Auzu siltumnīcas izmēģinājumu rezultātu apkopojums: sēklu dīdzbā, slimības vizuālā uzskaites un inficētības tests

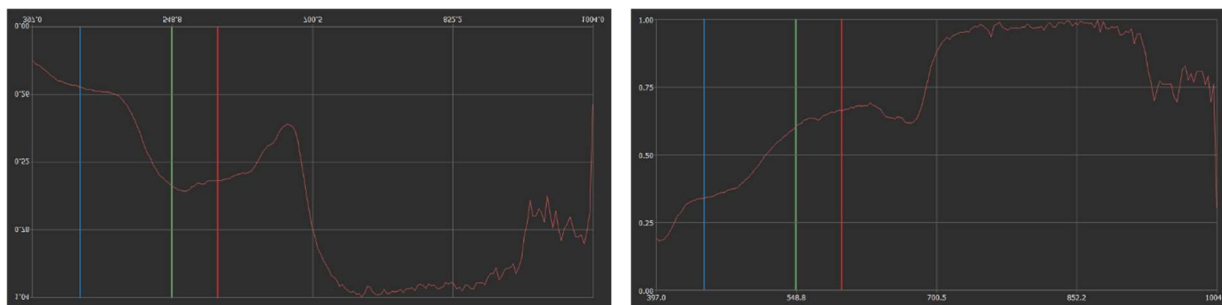
Varianta nosaukums	Sēklu vidējā dīdzbā % variantā	Graudu vizuālā novērtēšana – slimības izplatība % (vidējie rādītāji variantā)	Lapu un sakņu kakla vizuālā novērtēšana – slimības izplatība % (vidējie rādītāji variantā)	Inficētības testa rezultāti – slimības izplatība % / no tām <i>Fusarium</i> spp. %
Kontrole (labas kvalitātes sēklas)	80,8	66,4	0	10,0 / 0
Kontrole (sliktas kvalitātes sēklas)	30,8	49,9	0	20,0 / 10,0
Sēklu inficēšana ar <i>Fusarium</i> spp.	71,2	64,5	3,2	8,6 / 2,9
Vārpu inficēšana ar <i>Fusarium</i> spp.	84,6	75,2	8,9	36,0 / 32,0

Lapu inficēšana ar <i>Pyrenophora chaetomioides</i> (agrā fāze)	77,9	63,5	2,4	8,9 / 2,2
Lapu inficēšana ar <i>Pyrenophora chaetomioides</i> (vēlā fāze)	79,8	65,7	2,7	7,5 / 0

Fusarium spp patogēnu iniciētās slimības attīstību reģistrēja ar HS kameru, rezultātā iegūti attēli slimiem un veseliem augiem. Iegūtie attēli atšķirās pēc: i) konkrētā auga, t. sk. varianta; ii) orgānu tipa - lapas vai graudi; iii) slimības attīstības pakāpes (cik dienas pēc slimības inokulācijas iegūts konkrētais attēls). Par cik lapās *Fusarium* spp. patogēnu izraisītās slimības pazīmes novērotas diezgan reti, iegūts salīdzinoši maz HS attēlu, kuros reģistrēta slima lapa, toties attiecībā uz graudiem situācija ir atšķirīga – iegūts daudz HS attēlu ar slimiem graudiem. Spektrālās atšķirības starp slimiem un veseliem graudiem bija novērojamas vārpošanas beigu (BBCH 59) līdz ziedēšanas beigu fāzei (BBCH 69), turpmāk piengatavības, dzeltengatavības un novecošanas fāzēs spektrālās atšķirības pazuda (4.3. att.), tomēr iegūtie rezultāti būtu turpmāk jāpārbauda.

Sakarā ar to, ka mākslīgā inficēšana ar *Pyrenophora chaetomioides* nebija efektīva, šī patogēna slimības attīstības HS attēli netika iegūti.

Turpinās darbs pie iegūto HS attēlu priekšapstrādes, slimībai specifisko spektrālo īpašību meklēšanas, datu statistiskās analīzes. Šobrīd uzkrātie HS attēli būs par pamatu datu kopas veidošanai, tomēr nepieciešami, turpmākie pētījumi, kas gan papildinās HS attēlu datu kopu, gan ļaus labāk noteikt slimībai specifiskās spektrālās īpašības, ņemot vērā t. sk. dažādu auzu šķirņu ieņēmību/izturību pret pētāmajām slimībām. Kvalitatīvi izveidota datu kopa ļaus izstrādāt slimības atpazīšanas modeļus, kas balstīti mašīnmācīšanās metodē.



4.3. attēls. Slimu (pa kreisi) un veselu (pa labi) auzu graudu spektri, iegūti ar hiperspektrālo kameru.

5. Patogēno sēņu daudzveidības izpēte auzu un rudzu sējumos, īpašu uzmanību pievēršot bioloģiskajām audzēšanas sistēmām.

Auzu graudu kvalitāti negatīvi ietekmē dažādi patogēni, no kuriem nozīmīgākās ir *Fusarium* ģints sēnes, kas veido patērētāju veselībai bīstamus mikotoksīnus. Auzu slimības negatīvi ietekmē ne tikai graudu kvalitāti, bet arī ražas daudzumu, spēcīgas infekcijas rezultātā augam būs traucēta fotosintēze, elpošana un citas svarīgas funkcijas. Ar Zemkopības Ministrijas atbalstu 2020.-2021. gadā apsekoti auzu sējumi, ievākti dīgstu un skaru paraugi ar redzamām slimību pazīmēm. No ievāktajiem paraugiem izdalīti un LBTU Augu aizsardzības zinātniskā institūta kolekcijā saglabāti vairāk kā 500 *Fusarium* izolāti. Sākotnējā identifikācijā, pēc morfoloģiskajām pazīmēm un atsevišķu izolātu ITS1/5.8S/ITS2 reģiona sekvencēm, noteiktas 16 dažādās sugas. Graudos indikatīvi pēc morfoloģiskajām pazīmēm identificētas vairākas bīstamos toksīnus veidojošās *Fusarium* sugas – *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*.

Fusarium sugas ir ļoti plastiskas un mainīgas, kā arī virkne sugu ir morfoloģiski praktiski neatšķiramas un tās noteikt morfoloģiski var tikai indikatīvi. Tā kā šo sugu precīza identifikācija ir būtiska no to bioloģijas un toksīnu veidošanas aspekta, tad pārskata periodā uzsākta kolekcijā identificēto *Fusarium* morfoloģisko grupu reprezentējošo izolātu identifikācijas apstiprināšana. Identifikācijas apstiprināšana veikta, izmantojot daļēju *tef1-α* gēna, kurš atzīts par *Fusarium* sugu identifikācijas svītrkoda gēnu (Boutigny et al., 2019), un/vai ITS1/5.8S/ITS2 reģiona sekvencēšanu un sekvenču analīzi. Veikta literatūras izpēte, *Fusarium* sugām specifisko identifikācijas praimeru un toksīnus veidojošo genotipu noteikšanas marķieru atlase, un PCR diagnostikas protokolu teorētiskā izstrāde. Uzsākta visā kolekcijā esošo *Fusarium* izolātu DNS izdalīšana, lai tālāk noteiktu sugas un toksīnus veidojošos patogēna genotipus ar PCR balstītas diagnostikas metodi. Uzsākta arī kolekcijā esošo izolātu saglabāšana -80 °C temperatūrā, lai nodrošinātu to ilgstošu uzglabāšanu un kolekcijas stabilitāti. Iegūtie dati sniegs precīzu informāciju par konkrētu *Fusarium* sugu un toksīnus veidojošo genotipu sastopamību auzu sējumos Latvijā, ļaus prognozēt tālākos riskus un piemērot atbilstošus ierobežošanas pasākumus. Izveidotā un raksturotā kolekcija būs izmantojama tālākai auzu fusariozes pētniecībai, piemēram dažādu bioloģisko augu aizsardzības līdzekļu efektivitātes testiem vai šķirņu izturības pārbaudēm.

5.1. Metodika patogēno sēņu daudzveidības izpētei auzām

Nukleīnskābju izdalīšana, PCR amplifikācija un sekvencēšana

Neliels apjoms micēlija no aktīvi augošas kultūras ar sterilu adatu pārņemts 0.5 ml sterilā Eppendorf mēģenē, kurā iepildīti 30 – 50 µl atšķaidīšanas bufera. Buferis ar sēnes struktūrām vorteksēts un turēts istabas temperatūrā 3 minūtes. Pēc tam šķīdums 2 minūtes inkubēts 98 °C, inkubācijas laikā šķīdums samaisīts invertējot stobriņu. Veikta viegla centrifugācija, pēc kuras stobriņš novietots uz ledu. Pēc tam stobriņi novietoti uzglabāšanai saldētavā –20 °C.

Pilna garuma ITS1/5.8S/ITS2 reģiona PCR amplifikācija veikta, izmantojot *DreamTaq PCR Green master mix* un ITS1F un ITS4 praimerus (Gardes & Bruns, 1993; White et al., 1990). Amplikona garums ~ 600 bp. Daļēja *tef1-α* (*barcoding* daļa) PCR amplifikācija veikta, izmantojot EF1-2F un EF1-3R praimerus (Boutigny et al., 2019) un *Dream Taq PCR Master Mix 2x*. Amplikona garums ~750 bp.

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

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

Sekvencēšana abiem genoma reģioniem veikta Latvijas Biomedicīnas un pētījumu studiju centrā kā ārpalpojums, izmantojot amplifikācijas praimerus. Sekvenču asmeblija veikta, izmantojot datorprogrammu paketi Lasergene 14. Iegūtās sekvences salīdzinātas ar NCBI datu bāzē pieejamām sekvencēm, lai noteiktu sugu.

Fusarium kolekcijas saglabāšana ilgstošai uzturēšanai

Sēņu izolātus, kas paredzēti ilgstošai uzglabāšanai, saglabā 10% glicerīna šķīdumā -80°C. Glicerīnu atšķaida ar destilētu ūdeni, iepilda saglabājamajos traukos līdz 2/3 tilpuma (piemēram, 7 mL tilpuma Bijou pudelītēs vai cita tilpuma autoklāvēšanai piemērotās stobriņos) un autoklāvē (121 °C 120 minūtes).

Katrā Bijou pudelītē ievieto 4-5 PDA gabaliņus ar micēliju, katram izolātam veido 2 eksemplārus, uz pudelītēm uzraksta izolāta numuru. Sagatavotās pudelītes ar izolātiem ievieto uzglabāšanai paredzētās kastītēs. Uzglabā 5 C 24 stundas, kastītes droši noslēdz un pēc tam novieto saldētavā -80 °C.

Pārskata periodā -80 °C pavisam saglabāti 240 *Fusarium* kolekcijas izolāti (katrs 2 eksemplāros), kas iegūti no auzām iepriekšējā projekta laikā.

5.2. Rezultāti – *Fusarium* sugu daudzveidība auzu sējumos

Fusarium sugu precīzai identifikācijai no kolekcijas kopumā atlasīts 191 dažādu sugu izolāts (5.1. tabula). Morfoloģiski visdaudzveidīgākās bija *F. poae*, *F. sporotrichides*, *F. graminearum*, *F. armeniacum* (6 - 12 morfotipi).

5.1. tabula.

Sekvencēšanai atlasītie *Fusarium* morfotipi un izolāti

Suga*	Morfotipu skaits	Atlasīto izolātu skaits, kopā	Sekvencētie izolāti			
			ITS reģions	<i>tefl-α</i>	Kopā**	Apstiprinātās sugas
<i>F. armeniacum</i>	6	11	3	3	6	<i>F. avenaceum</i>
<i>F. avenaceum</i>	5	8	3	5	6	<i>F. avenaceum</i>
<i>F. beomiforme</i>	4	6	1	0	1	<i>F. sporotrichioides</i>
<i>F. camptoceras</i>	4	9	0	0	0	-
<i>F. culmorum</i>	6	8	1	6	6	<i>F. culmorum</i> <i>F. torulosum</i>
<i>F. graminearum</i>	7	19	9	8	13	<i>F. graminearum</i>
<i>F. oxysporum</i>	6	15	9	11	13	<i>F. oxysporum</i>
<i>F. poae</i>	12	44	23	33	39	<i>F. poae</i>

						<i>F. langsethiae</i>
<i>F. redolens</i>	4	5	2	5	5	<i>F. redolens</i> <i>F. torulosum</i> <i>F. oxysporum</i>
<i>F. sporotrichoides</i>	9	12	2	0	2	<i>F. sporotrichioides</i>
<i>F. trinctum</i>	3	4	0	0	0	-
<i>F. crookwellense</i>	1	1	0	0	0	-
<i>F. acumitanum</i>	1	2	0	0	0	-
<i>F. scirpi</i>	1	2	0	0	0	-
<i>F. compactum</i>	1	1	0	0	0	-
<i>F. equiseti</i>	1	1	0	0	0	-
<i>Fusarium</i> neidentificēti	-	43	1	2	2	<i>Fusarium</i> sp. <i>F. poae</i>
Kopā	-	191	54	73	93	-

* Indikatīvi noteikta pēc morfoloģiskajām pazīmēm.

** Izolātu skaits, kuriem sekvencēts vismaz viens vai abi analizētie genoma reģioni.

No diviem testētajiem praimeru pāriem, kā piemērotākais *Fusarium* sugu *tefl-α* gēna PCR amplificēšanai un sekvencēšanai atzīts EF1-F2/EF1-R3 praimeru pāris. Izstrādātā metodika sekmīgi pielietota līdz šim amplificētajiem paraugiem un to varēs tālāk izmantot arī no rudziem izdalīto *Fusarium* izolātu *tefl-α* gēna amplificēšanai, sekvencēšanai un sugu identifikācijas apstiprināšanai.

Lielākajā daļā gadījumu morfoloģiski identificētās sugas apstiprinātas arī ar sekvencēšanu. Starp *F. poae* (4.-6. morfortips), *F. culmorum* (5. morfortips) un *F. redolens* (3.-4. morfortips) morfortipiem, pēc *tefl-α* sekvenču analīzes, konstatētas divas jaunas sugas - *F. langsethiae* un *F. torulosum*. *Fusarium langsethiae* zināma, kā T-2 un HT-2 toksīnus producējoša suga, kas izplatīta vēsākā klimatā un vairāk specializēta tieši uz auzām (Morcia *et al.*, 2016; Divon *et al.*, 2018). Savukārt, sākotnēji identificētie *F. armeniacum* izolāti pēc sekvencēm apstiprināti kā *F. avenaceum*.

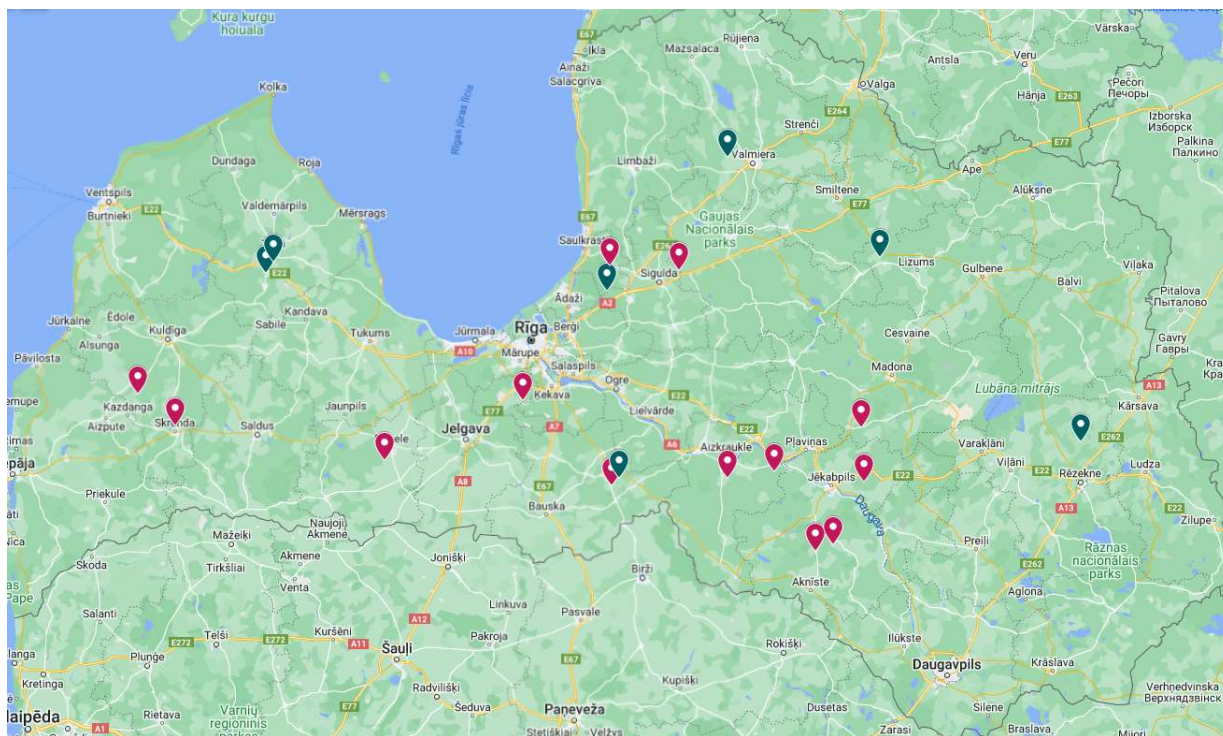
Pārskata periodā adaptēta vienkāršota un lielam paraugu apjomam piemērota nukleīnskābju izdalīšanas metodika, lai varētu veikt visu kolekcijā esošo izolātu identitātes apstiprināšanu ar molekulārām diagnostikas metodēm. Līdz pārskata perioda beigām, no kolekcijā kopumā esošajiem 537 *Fusarium* izolātiem, DNS izdalīts 249 izolātiem. Vienlaikus šie izolāti saglabāti - 80 °C temperatūrā, lai nodrošinātu to ilgstošu uzglabāšanu un kolekcijas stabilitāti.

Literatūras izpētē konstatēts, ka lielai daļai uz graudaugiem izplatīto *Fusarium* sugu ir izstrādāti sugu specifiski identifikācijas praimeru, ka arī pieejami toksīnus veidojošo genotipu marķieri (1. pielikums), kas ļautu pielietot PCR-balstītu sugu diagnostiku visai kolekcijai. Pārskata periodā veikta šo praimeru un marķieru iegāde un PCR diagnostikas protokolu izstrāde.

6. Rudzu patogēnu izpēte

6.1. Metodika rudzu dīgstu paraugu ievākšanai

Augu paraugus ievāca rudzu sējumos visos Latvijas novados. Pavisam monitoringā iekļāva 20 saimniecības, t.sk., 7 ar bioloģisku un 13 ar integrētu saimniekošanas veidu (6.1. attēls).



6.1. attēls. Monitoringā iekļautie rudzu sējumi. Ar sarkanu atzīmi – integrētas, ar tumši zaļu – bioloģiskas saimniekošanas sējumi.

No katra rudzu sējuma 10 vietās ievāca pa 10 augiem (1 paraugs). Augs tika izraksts no augsnes ar visu sakņu sistēmu, tā, lai arī grauds būtu iekļauts paraugā. Pirms paraugu ievākšanas, lauks tika novērtēts vizuāli un izvēlēts paraugu ievākšanas maršruts tā, lai dažādās paraugu vākšanas vietas atrastos atšķirīgās reljefa vietās.

Katru paraugu ievietoja atsevišķās papīra tūtās un marķēja ar saimniecībai piešķirto kodu un parauga numuru (piemēram, 1.1; 1.2 ...1.10 – saimniecības kods, parauga numurs pēc kārtas).

6.2. Metodika patogēno sēņu izdalīšanai no rudziem

Parauga sagatavošana

Ievāktie paraugi līdz sagatavošanai likšanai uz barotnēm uzglabāti +5 °C ne ilgāk kā 1-3 dienas. Ievāktie paraugi (1 augs = 1 paraugs) sadalīti vairākos paraugos atkarībā no augu daļas (piem., graudi, stiebra apakšējā daļa, sakņu kakls), ievietoti Petri platē un attiecīgi numurēti, ievērojot vienotu sistēmu (piem. 1.1. G – 1. paraugs graudi; 1.2. Sk. – 1. paraugs sakņu kakls). Ja nepieciešams, pirms tam noskaloti krāna ūdenī (piem. sakņu kakls vai stublāja apakšējā daļa). Ja

bija redzamas bojājuma pazīmes, tad auga daļas uzlikšanai uz barotnes izvēlētas tā, lai būtu iekļauta robeža starp veselajiem un bojātajiem audiem.

Parauga sterilizācija, likšana uz barotnēm un inkubācija

Sagatavotās augu daļas laminārajā boksā sterilizētas 1.25 % nātrija hipohlorīta šķīdumā, 3 reizes noskalotas sterilā destilētā ūdenī (iemērcot vārglāzē ar sterilu ūdeni) un novietotas starp steriliem filtrpapīriem nosusināties. Sterilizācijas ilgums sakņu kaklam un lapu daļām bija 1 minūte, graudiem 2 minūtes. Katrā saimniecībā ievāktu paraugu apstrādē izmantoti jauni šķīdumi un skalošanas trauki. Pēc paraugu daļu apžūšanas uz kartupeļu dekstrozes agara (PDA) barotnes ar antibiotikām vienā platē ievietoti 3-6 audu gabaliņi.

Plates inkubētas augu audzēšanas kamerā 22 °C temperatūrā līdz 10 dienām. Plates pārbaudītas regulāri, vismaz katru otro dienu, lai parādījušās kolonijas nekavējoties pārsētu tīrkultūrā.

Tīrkultūru saudzēšana, sākotnējā identifikācija un saglabāšana kolekcijā

Sterilos apstākļos laminārajā boksā no saaugušajām kolonijām ar sterilu mikrobioloģisko adatu izgriezti nelieli (3-5 mm diam.) kolonijas gabali un pārnesti jaunā platē ar barotni, novietojot to plates vidū ar kolonijas augšu uz leju. Plates ar tīrkultūrām aptītas ar parafilmu un inkubētas augu audzēšanas kamerā 22-23 °C temperatūrā 1-3 nedēļas. Pēc 3 nedēļām visas sēņu kolonijas tiks sargrupētas grupās pēc koloniju morfoloģijas un veikta to aprakstīšana. Atsevišķus paraugus plānots identificēt ar mikroskopijas palīdzību.

Sēņu izolāti, kurus paredzēts ilgstoši uzglabāt, ievietoti 10% glicerīna šķīdumā. Iepriekš sagatavotas pudelītes: glicerīns atšķaidīts ar destilētu ūdeni, 4mL no sagatavotā šķīduma iepildīts Bijou pudelītēs. Autoklāvēts 121 °C 120 minūtes. Katrā Bijou pudelītē ievietoti 5 PDA gabaliņus ar micēliju, katram izolātam veidoti 2 eksemplāri. Uz pudelītēm uzrakstīts izolāta numurs. Sagatavotās pudelītes ar izolātiem ievietotas uzglabāšanai paredzētās kastītēs. Uzglabā 5 °C 24 stundas, kastītes aizlīmē un pēc tam novietotas saldētavā -80 °C.

Patogēnu identifikācija pēc morfoloģiskām pazīmēm

Mikroskopēšanā izmantots Zeiss Axiolab 5 sērijas mikroskops un attēlu dokumentēšanai un analīzei Zeiss Laboscope V 3.0 datorprogramma. Ar sterilu mikroskopijas adatu sēnes struktūras fragments no Petri plates ievietots, destilēta ūdens pilienā uz priekšmetstikla, pēc nepieciešamības homogenizēts un noseigts ar segstiklu. Analizējamā sēnes struktūra izvēlēta atkarībā no taksona, priekšroka dota sporodohijiem vai micēlija fragmentam no kolonijas vidusdaļas. Sagatavotais paraugs novietots zem mikroskopa. Sākotnēji 10x palielinājumā izvēlēts labākais fragments, detalizēta analīze veikta 400x palielinājumā. Sēnes struktūras mērītas izmantojot okulāra mikrometru (viena iedaļa $\approx 2 \mu\text{m}$). Lai varētu veikt precīzu sugu identifikāciju, darba procesā izmatoti dažādi mācību palīglīdzekļi, piemēram, The Fusarium Laboratory Manual¹. Sugu noteikšanai izmantotas atslēgas pazīmes: micēlija koloniju morfoloģija (blīvums, izmērs, t. sk. augstums, vizuālais izskats, pigmentācija, atsevišķas (atšķirīgas) struktūras, krāsa, pigmentācija gaisa micēlijā un agarā, aromāts u.tml.), mikrokonīdiju un/vai makrokonīdiju īpašības (ir/nav, forma, izmēri, septu skaits, apikālās/bazālās šūnas forma (makrokonīdijām), sastopamības biežums u. tml.), hlamidosporu īpašības (ir/nav, forma, aptuvenie izmēri, krāsa, sakārtojums u.

tml.), kā arī citas specifiskas īpašības. Nepieciešamības gadījumā atsevišķi izolāti mikroskopēti vairākkārt. Starp paraugiem izmantotie instrumenti un virsma dezinficēta ar 70% etanola šķīdumu.

Parauga mikroskopēšanas gaitā, mikroskopā iebūvēto kameru uzņēmti mikroskopijas fotoattēli, kuru turpmāko analīzi un saglabāšanu veica Zeiss Laboscope V3.0 programmā, katram izolātam katram izolātam uzņemti vismaz 4 fotoattēli.

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

6.3. Rezultāti – toksīnus veidojošo sēņu sastopamība, sugu identificēšana rudzu dīgstos

Rudzu dīgstu paraugos konstatētās bojājumu pazīmes

Kopā no visām monitoringā iekļautajām saimniecībām ievākti 2000 rudzu dīgstu paraugi (100 no katras saimniecības).

Uz rudzu dīgstiem atsevišķi atzīmēja lapu, sakņu kakla un graudu bojājumus, ko varētu attiecināt gan uz sēņu ierosinātām, gan fizioloģiska rakstura pazīmēm. Bojājumu sastopamība atšķīrās starp saimniecībām. No dažām saimniecībām paņemtajos paraugos pamanīti tikai atsevišķi fizioloģiska rakstura bojājumi vai visi augi paraugā bijuši pilnīgi veseli (skat. 6.2. att.).

Konstatēta lapu galu un visas lapas brūnēšana vai dzeltēšana, kas saistāma ar ārējās vides apstākļu – pazemināta gaisa temperatūra un pārlieks mirums – nelabvēlīgo ietekmi. Violeto lapu krāsojumu savukārt izraisījusi kāda barības elementa nepietiekamība vai auga nespēja to uzņemt nelabvēlīgu laika apstākļu ietekmē (skat. 6.2. att.).

Atsevišķos gadījumos (mazāk kā 1% no kopējā paraugu skaita) uz lapām konstatētas arī infekciozas izcelsmes pazīmes – plankumi (skat. 6.3. att.), ko ierosinājušas sēnes. Uz 3 lapām (no visu saimniecību paraugiem) atrastas rūsas pustulas.

Sakņu kala bojājumi izpaudās kā tumši plankumi vai puve, taču bija reti sastopami (2% no kopējā paraugu skaita) (skat. 6.3. att.).

Bojājumu pazīmes uz graudiem var raksturot kā visa grauda vai tā daļas melnēšanu vai tumšošanu, taču vizuāli nav iespējams noteikt vai bojājums ir infekciosts, vai vides apstākļu ierosināts.



6.2. attēls. Pa kreisi: veseli augi, vidū: ar violeti sārtām lapām, pa labi: nodzeltējušas, nobrūņējušas lapas.



6.3. attēls. Pa kreisi: plankumi uz lapām, pa labi: sakņu kakla bojājumi.

7. Alternatīvo ierobežošanas metožu ekonomisko un saimniecisko pamatojums

Alternatīvo ierobežošanas metožu izvēlei, galvenokārt *Fusarium* spp. ierosinātu slimību ierobežošanā, un to pamatošanai, pārskata periodā veica literatūras analīzi par citās valstīs veiktu pētījumu rezultātiem auzu un rudzu sējumos.

Pirms iekļaušanas izmēģinājumu variantos Latvijas Universitātes laboratorijā testēja vairāku mikrobioloģisko preparātu sastāvos iekļauto mikroorganismu ietekmi uz “Agrihorts” kolekcijās esošu *Fusarium* izolātu augšanu un attīstību. Ņemot vērā šo testu rezultātus, kombinēja aktīvo mikroorganismu sastāvu izmēģinājumos izmantotajiem mēslošanas līdzekļiem.

Tā kā iegūtās ražas daudzums un kvalitātes parametri ir cieši saistīti ar ekonomiskajiem rādītājiem, tad diskusijā galvenā uzmanība pievērsta izmēģinājumos izmantoto alternatīvo līdzekļu lietošanas ietekmei uz auzu ražas kvantitāti un kvalitātes rādītājiem.

7.1. Literatūras analīze par slimību un mikotoksīnu sastopamības pētījumiem rudzu sējumos

Rudzus *Secale cereale* Latvijā audzē jau kopš VIII – IX gadsimta, tie ir nozīmīga maizes izejviela un Latvijas kultūras sastāvdaļa. Rudzu lietošana uzturā atstāj pozitīvu ietekmi uz veselību, tie satur dažādas minerālvielas (dzelzi, magniju, kalciju, kāliju u.c.), šķiedrvielas, lignānus, PP, E un B grupas vitamīnus. Graudu kvalitāti būtiski ietekmē slimības, graudi ir nelieli, nepilnīgi izveidojušies, arī raža samazinās.

Latvijā uz rudziem galvenokārt sastopama stiebrzāļu gredzenplankumainība *Rhynchosporium* spp. (Bimšteine, 2022). Retāk sastopama ir graudzāļu stiebru rūsa (*Puccinia graminis*), graudzāļu miltrasa (*Blumeria graminis*), kviešu lapu dzeltenplankumainība (*Pyrenophora tritici-repentis*), rudzu lapu pelēkplankumainība (*Septoria secalis*), vārpu plēkšņu plankumainība (*Parastagonospora nodorum*), brūnā rūsa (*Puccinia recondita*), dzeltenā rūsa (*Puccinia striiformis*), rudzu stiebru melnplauka (*Urocystis occulta*), vārpu fuzarioze (*Fusarium* sp.), melnie graudi (*Claviceps purpurea*), melnais sodrējums (*Cladosporium herbarum*), sārtais sniega pelējums (*Fusarium nivale*), pelēkais sniega pelējums (*Typhula* spp), baltvārpainība (*Gaeumannomyces graminis*), stiebru lūšana jeb acsveida plankumainība (*Oculimacula aciformis*, *O. yallundae*), stiebra pamatnes (sakņu kakla) un sakņu puves².

Rudzu slimības Latvijā ir pētītas lauka apstākļos. Stendē un Priekuļos veiktajos izmēģinājumos 2009-2012 pārbaudīta rudzu šķirņu ‘Kaupo’, ‘Agronom’, ‘Palazzo’, ‘Picasso’ un ‘Gradan’ ieņēmība pret slimībām. Pētījuma autori, veicot uzskaites, uz rudziem konstatēja stiebrzāļu gredzenplankumainību, brūno rūsu un graudzāļu miltrasu. Pēc ražas datu analīzes secināja, ka lauciņos ar fungicīda Tango Super s. e. (epoxiconazole, 84 g L-1, fenpropiomorph, 250 g L-1) smidzinājumu, ražas daudzums ir par 8% augstāks nekā neapstrādātos lauciņos. Tāpat tika izdarīts secinājums, ka lietainās dienas būtiski neietekmēja slimību izplatību. (Bankina et al. 2013.)

² https://noverojumi.vaad.gov.lv/images/Labibas_buklets_WEB.pdf, skatīts 27.11.2023

Arī Baltkrievijā ir izplatīta stiebrzāļu gredzenplankumainība. Pētījuma gados (2019–2021) РУП «Институт защиты растений» izmēģinājuma laukā slimības izplatība bija 10–100 %, bet attīstība 1,0–28,1 % (Жуковская, 2022).

Igaunijā Tupits & Sooväli, 2010 sešu gadu laikā (2000-2006) pētīta rūsu izplatība un attīstība uz 11 rudzu šķirnēm, kā arī analizēta klimatisko faktoru ietekme. Jõgeva Plant Breeding Institute (PBI) pētījuma gados novēroja vidēju infekcijas līmeni. Secināja, ka laika apstākļi (mitrums) ir nozīmīgs ietekmējošais faktors stiebru rūsas attīstībai, savukārt, brūnās rūsas attīstībai meteoroloģiskie apstākļi nebija nozīmīgi.

Lietuvā pētīta *Fusarium* ģints sēņu sastopamība rudzu graudos. Tajos atrasti *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. solani*, *F. incarnatum*, *F. sambucinum*. Graudu paraugi, kas ņemti no ar azoksitrobīnu apstrādātiem lauciņiem, bija visvairāk inficēti ar *Fusarium* (42,5%), kā arī šajos graudos bija visaugstākais DON (691 µg kg⁻¹), T-2 (153.6 µg kg⁻¹) toksīnu daudzums. Pētījuma laikā secināja, ka smidzinājumi ar tebukonazolu saturošiem augu aizsardzības līdzekļiem samazināja vārpu inficētību ar *Fusarium*, bet neietekmēja mikotoksīnu daudzumu (Mankevičienė et.al. 2008). Savukārt, Gaurilčikienė et. al. 2011 noskaidroja, ka, neatkarīgi no fungicīdu pielietojuma, rudzu un tritikāles sējumos visbiežāk sastopamās *Fusarium* spp. sugas ir *F. avenaceum*, *F. poae* un *F. culmorum*. Rudzu inficētību ar *Fusarium*, mikotoksīnu daudzumu, kā arī fungicīdu efektivitāti ietekmē meteoroloģiskie apstākļi.

Arī Polijā uz rudziem sastopamas *Fusarium* ģints sēnes. Kiecana & Mielniczuk 2010, veicot uzskaites, fuzariozes simptomus konstatēja 0-7% vārpu. Visbiežāk slimības simptomus ierosināja *F. avenaceum*, *F. culmorum* un *F. sporotrichioides*, konstatēja arī *Fusarium poae* un *Fusarium crookwellense*. Sugu īpatsvaru un dominanci ietekmēja meteoroloģiskie apstākļi.

Somijā agri sētajiem rudziem (augusta sākums) novēroja augstu inficēšanās pakāpi ar *P. recondita* un *M. nivale*, bet rudziem, kas sēti divas nedēļas vēlāk, infekcijas pakāpe bija mazāka. Secināja, ka sēšanas laikam ir liela nozīme slimību attīstībā, rekomendējama ir vidēji vēla sēja. Fungicīdu apstrāde pret sniega pelējumu nepieciešama ieņēmīgām šķirnēm, īpaši reģionos, kur ir bieza, ilgstoša sniega sega (Serenius et al., 2005)

7.2. Literatūras analīze un diskusija par alternatīvu ierobežošanas metožu pētījumiem

Pasaulē arvien populārākas kļūst idejas par drošām, efektīvām un dabai draudzīgām augu aizsardzības ierobežošanas metodēm.

Fusarium ģints slimības var ierobežot izmantojot dažādus mikroorganismu saturošus līdzekļus, piemēram, Polyversum (satur *Pythium oligandrum*). Pellan et al. 2020 veica pētījumu ar mērķi pārbaudīt *T. asperellum* un *P. oligandrum* iedarbību uz *Fusarium graminearum* un *Fusarium verticillioides*. Mikroskopiskajos novērojumos bija redzams, ka *P. oligandrum* aug ātrāk nekā *Fusarium* ģints sēnes, tas pārņem patogēna koloniju. Biotesti ar *F. graminearum* pierādīja, ka *P. oligandrum* samazināja patogēna augšanu par 79% un mikotoksīnu koncentrāciju par 93%, savukārt, biotestos ar *F. verticillioides* atklāja, ka, *P. oligandrum* samazināja patogēna augšanu par 49% un mikotoksīnu koncentrāciju par 56%. Pētījuma autori rekomendē lietot Polyversum pret *F. graminearum* un Xedavir pret *F. verticillioides*.

Pamatojoties uz mikroorganismus saturošā līdzekļa Polyversum iepriekšēju pētījumu rezultātiem, to izvēlējāmies iekļaut lauka pētījumos kā vienu no izmēģinājumu variantiem gan bioloģiskajā, gan integrētajā auzu sējumā. Integrētajā izmēģinājumā variantā, kur tika lietots

Polyversum, iegūta raža ($t\ ha^{-1}$) par 3.51% vairāk nekā kontrolē un pārspēja ķīmisko fungicīdu lietošanas varianta rezultātus. Tāpat, Polyversum lietošanas rezultātā tauku saturs auzu graudos integrētajā izmēģinājumā bija lielāks par 8.8%, cietes saturs par 5.08% un proteīna saturs par 1.05% salīdzinājumā ar kontroli. Savukārt bioloģiskajā izmēģinājumā Polyversum parādīja nelielu pozitīvu ietekmi uz auzu tūkstots graudu masu (+2.32%), proteīna saturu (+1.04%) un graudu tilpummasu (+2.13%) salīdzinājumā ar kontroli. Turklāt Polyversum lietošana samazināja mikotoksīnu T2/TH2 saturu auzu graudos gan bioloģiskajā (kontrolē – 242, Polyversum variantā – 181 ppg), gan integrētajā izmēģinājumā (kontrolē –74, Polyversum variantā – 62 ppg).

Fusarium attīstību efektīvi ierobežo arī *B. subtilis*. Khan et al. 2018 atklāja, ka *Fusarium* spp. radiālā augšana samazinājās par aptuveni 40% pēc apstrādes ar *B. subtilis* 30VD-1. Tāpat novēroja, ka pēc apstrādes *F. oxysporum* hifas ir izkropļotas un palielinājušās. Līdzīgi novēroja Lu et al. 2023 - in vitro testos *B. subtilis* (BS45) metanola ekstrakts izraisīja *F. graminearum* hifu šūnu palielināšanos un nomāca konīdiju dīgšanu, šūnu membrāna tika bojāta. Siltumnīcu eksperimentos kviešu dīgstu biomasa pēc apstrādes ar BS45 palielinājās, *B. subtilis* būtiski nomāca *Fusarium* spp. izraisīto sakņu puvi izplatību.

B. subtilis kombinācijā ar citiem mikroorganismiem, t.sk., *Trichoderma* spp. bija iekļauts vienā no mūsu izmēģinājumā izmantotajiem mēslošanas līdzekļiem gan bioloģiskajā, gan integrētajā izmēģinājumā. Integrētajā izmēģinājumā apstrāde ar šo preparātu parādīja pozitīvu ietekmi uz tauku saturu auzu graudos (+23.98%) salīdzinājumā ar kontroli. Savukārt bioloģiskajā auzu sējumā, apstrāde ar šo preparātu palielināja ražu par 6.82%, kā arī atstāja pozitīvu ietekmi uz cietes, tauku saturu un graudu tilpummasu.

Yao et al. 2023 pētīja *Trichoderma* ietekmi uz augu patogēniem un nematodēm. Tā tiek izmantota, lai ierobežotu dažādu kultūraugu sakņu, lapu un vārpu slimības. *Trichoderma* ne tikai ierobežo slimību izplatību, bet arī veicina augu augšanu, barības vielu efektīvu izmantošanu, palielina augu izturību. Pētījumi atklāj, ka liela daļa *Trichoderma* sugu veido bioaktīvas vielas, kam ir antagonists efekts uz patogēnajām sēnēm un nematodēm (Druzhinina et al., 2018).

Divos izmēģinājuma variantos lietoja mikrobioloģisko preparātu, kura sastāvā bija vairāku *Trichoderma* sugu sporas. Integrētajā izmēģinājumā lietojot šo preparātu auzu ziedēšanas laikā ieguva pozitīvu ietekmi uz ražas kvantitāti (+3.76%) un proteīna saturu graudos, variantā ar apstrādi gan pirms, gan pēc ziedēšanas (attiecīgi +2.56 un 2.98%), salīdzinājumā ar kontroli. Līdzīgi rezultāti iegūti arī bioloģiskajā izmēģinājumā. Integrētajā izmēģinājumā šī preparāta lietošanas ietekmē mikotoksīnu T2 un HT2 saturs auzu graudos nesamazinājās, salīdzinājumā ar kontroles variantu. Taču bioloģiskajā izmēģinājumā ar šo preparātu apstrādātajos variantos pieminēto toksīnu saturs bija salīdzinoši zemāks (129 un 169 ppg) par kontrolē noteikto (242 ppg).

Azotobacter spp. spēj efektīvi ierobežot graudaugu patogēnu attīstību. *Azotobacter salinestrus* par 35,5% samazināja *Fusarium* spp. izplatību kviešu graudos, bet sēklu dīgspēja kviešiem pēc apstrādes ar *A. salinestrus* uzlabojās par 68% (Nagaraja et al. 2022).

Vienā no sēklu izmēģinājuma variantiem pirms sējas apstrādāja augsni ar mikrobioloģisko preparātu maisījumu, kuru sastāvā bija arī *Azotobacter* spp. Auzu raža šajā variantā bija par 11.69% lielāka nekā neapstrādātajā variantā, novēroja arī pozitīvu ietekmi uz auzu kvalitātes rādītājiem. Tāpat ar šo preparātu apstrādātā varianta ražā konstatēja mazāku mikotoksīnu T2/HT2 saturu auzu graudos (25 ppg), salīdzinājumā ar kontroli (124 ppg).

Arī *Pseudomonas* spp. iespējams izmantot, lai ierobežotu *Fusarium* spp. izplatību (Nabrdalik, M., & Grata, K. (2011). Tādēļ sēklu izmēģinājuma vienā variantā iekļāva *Pseudomonas chlororaphis* saturošu mikrobioloģisko sēklu apstrāde līdzekli Cedomon. Apstrādes variantā ar Cedomon devu $10\ Lt^{-1}$ ieguva par 16.73% lielāku auzu ražu (tha^{-1}). Tāpat sēklas

apstrāde ar Cedomon pozitīvi ietekmēja ražas kvalitātes rādītājus. Tāpat ar Cedomon apstrādāto variantu ražā konstatēja mazāku mikotoksīnu T2/HT2 saturu auzu graudos (45 un 47 ppɡ), salīdzinājumā ar kontroli (124 ppɡ).

7.3. Secinājumi un turpmākie uzdevumi alternatīvo augu aizsardzības metožu izpētē

1. Pētījumos izmantotie mikroorganismu saturošie augu aizsardzības līdzekļi ir potenciāli noderīgi, lai samazinātu ķīmiski sintezētu augu aizsardzības līdzekļu lietošanu auzu sējumos un stiprinātu augu izturību pret *Fusarium* ģints sēņu ierosinātām slimībām, it īpaši bioloģiskajā saimniecības sistēmā.
2. Var secināt, ka *Pythium oligandrum*, *Trichoderma* spp., *Azotobacter* spp. un *pseudomonas* saturoši mikrobioloģiskie preparāti samazināja mikotoksīnu T2/HT2 saturu auzu graudos.
3. Nepieciešami turpmāki pētījumi par mikroorganismu saturošu augu aizsardzības un mēslošanas līdzekļu lietošanas saimniecisko noderīgumu un ekonomisko pamatojumu auzu slimību ierobežošanā un augu izturības veicināšanā pret slimību ierosinātājiem, īpaši bioloģiskajos sējumos. Pēc viena gada pētījumiem var konstatēt tikai tendences, taču, lai varētu izstrādāt konkrētus ieteikumus audzētājiem, nepieciešama šo līdzekļu izvērtēšana vairākos veģetācijas periodos ar augstāku slimību attīstības risku.

8. Literatūras apskats

- Aoki T., O'Donnell K. L. (1999) Morphological and molecular characterization of *Fusarium pseudograminearum* sp. nov., formerly recognized as the Group 1 population of *F. graminearum*. *Mycologia* 91(4): 597-609.
- Bimšteine, G. 2022. *Graudaugu šķirņu izturības izvērtējums pret slimībām Latvijas agroklimatiskajos apstākļos, novērtējot šķirņu saimnieciskās īpašības.*
- Boutigny A-L, Gautier A, Basler R, Dauthieux F, Leite S, Valade R, et al. (2019) Metabarcoding targeting the EF1 alpha region to assess *Fusarium* diversity on cereals. *PLoS ONE* 14(1): e0207988. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207988>
- Divon H. H., Bøe L., Tveit M. M. N., Klemsdal S. S. (2018) Infection pathways and penetration modes of *Fusarium langsethiae*. *European Journal of Plant Pathology*, <https://doi.org/10.1007/s10658-018-01653-3>.
- Druzhinina I. S., Chenthamara K., Zhang J., Atanasova L., Yang D., Miao Y. 2018. Massive lateral transfer of genes encoding plant cell wall-degrading enzymes to the mycoparasitic fungus *Trichoderma* from its plant-associated hosts. *PLoS Genet.* 14:e1007322. DOI: 10.1371/journal.pgen.1007322.
- Edel-Hermann V., Gautheron N., Mounier A., and Steinberg C. 2015. *Fusarium* diversity in soil using a specific molecular approach and a cultural approach. *J. Microbiol. Methods* 111:6471. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.01.026> [Crossref](#)
- Fredlund E., Gidlund A., Sulyok M., Börjesson T., Krska R., Olsen M., Lindblad M. (2013) Deoxynivalenol and other selected *Fusarium* toxins in Swedish oats — Occurrence and correlation to specific *Fusarium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 167: 276-283. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.026>
- Gagkaeva, Tatiana & Gavrilova, Olga & Orina, Aleksandra & Blinova, E. & Loskutov, Igor. (2018). Diversity of Avena Species by Morphological Traits and Resistance to Fusarium Head Blight. *Russian Journal of Genetics: Applied Research.* 8. 44-51. 10.1134/S2079059718010070.
- Gardes M. and Bruns T.D. 1993. ITS Primers with Enhanced Specificity for Basidiomycetes— Application to the Identification of Mycorrhizae and Rusts. *Molecular Ecology*, 2, 113-118. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x>.
- Gaurilčikienė I., Mankevičienė A., Supronienė S. 2011. The effect of fungicides on rye and triticale grain contamination with *Fusarium* fungi and mycotoxins. *Žemdirbystė=Agriculture*, vol. 98, ISSN 1392-3196, No. 1, p. 19–26.
- Hjelkrem, A. G. R., Aamot, H. U., Brodal, G. et al. HT-2 and T-2 toxins in Norwegian oat grains related to weather conditions at different growth stages. *Eur J Plant Pathol* 151, 501–514 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1394-3>

- Karlsson I., Edel-Hermann V., Gautheron N., Durling MB., Kolseth A-K., Steinberg C., Persson P., Friberg H. (2016) Genus-specific primers for study of *Fusarium* communities in field samples. *Appl Environ Microbiol* 82:491–501. doi:10.1128/AEM.02748-15.
- Kiecana I. & Mielniczuk E. 2010. Fusarium head blight of winter rye (*Secale cereale* L.). *Acta Agrobotanica*, Vol. 63 (1): 129–135.
- Khan N.,Martínez-Hidalgo P., Ice T.A.,Maymon M., Humm E.A., Nejat N., Sanders E.R., Kaplan D., Hirsch A. M.2018. Antifungal activity of *Bacillus* species against *Fusarium* and analysis of the potential mechanisms used in biocontrol. *Front.Microbiol.* 9:2363. DOI:10.3389/fmicb.2018.02363.
- Koncz Z., Huszti K., Naár Z., Kiss A. and Szécsi Á. (2008) PCR Identification of *Fusarium graminearum* Isolated from Wheat Grain. *Cereal Research Communications* 36(4), pp. 623–630 DOI: 10.1556/CRC.36.2008.4.11.
- Mankevičienė A., Gaurilčikienė I., Supronienė S. 2008. The infestation of winter rye and triticale grain with *fusarium* fungi as affected by fungicide use. *Cereal Research Communications*, Vol. 36, Suppl. B. DOI: 10.1556/CRC.36.2008.Suppl.B.60.
- Morcia C., Tumino G., Ghizzoni R., Badeck F.W., Lattanzio V.M.T., Pascale M., Terzi V. (2016) Occurrence of *Fusarium langsethiae* and T-2 and HT-2 Toxins in Italian Malting Barley Toxins, 8: 247.
- Nagaraja H., Chennappa G., Deepa N., Naik M.K., Ajithkumar K., Amaresh Y.S., Achar P.N., Sreenivasa M.Y. 2022. Antifungal potential of *Azotobacter salinestris* strain Azt31 against phytopathogenic *Fusarium* spp. associated with cereals. *J.Fungi*,8,473. DOI: 10.3390/jof8050473.
- Nicholson, K., Munson, M., Miller, R. et al. Regulation of SNARE complex assembly by an N-terminal domain of the t-SNARE Sso1p. *Nat Struct Mol Biol* 5, 793–802 (1998). <https://doi.org/10.1038/1834>
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., and Ploetz, R. C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95:2044-2049.
- Parry D. W. & Nicholson P. (1996) Development of a PCR assay to detect *Fusarium poae* in wheat. *Plant Pathology*, 45, 383–391.
- Pellan L., Durand N., Martinez V., Fontana A., Schorr-Galindo S., Strub C.2020. Commercial biocontrol agents reveal contrasting compartments against two mycotoxigenic fungi in cereals: *Fusarium graminearum* and *Fusarium verticillioides*. *Toxins*, 12, 152, DOI:10.3390/toxins12030152.
- Pettersson H, Brown C, Hauk J, Hoth S, Meyer J, Wessels D. Survey of T-2 and HT-2 toxins by LC-MS/MS in oats and oat products from European oat mills in 2005-2009. *Food Addit Contam Part B Surveill.* 2011;4(2):110-5. doi: 10.1080/19393210.2011.561933. Epub 2011 May 11.

PMID: 24785722; PMCID: PMC3144484.

- Ropejko K, Twarużek M (January 2021). "Zearalenone and Its Metabolites-General Overview, Occurrence, and Toxicity". *Toxins*. 13 (1): 35. doi:10.3390/toxins13010035. PMC 7825134. PMID 33418872
- Schilling A.G., Moller E.M., Geiger H.H. (1996) Polymerase chain reaction-based assays for species-specific detection of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, and *F. avenaceum*. *Molecular Plant Pathology*, 86: 515-522.
- Serenius, M., Huusela-Veistola, E., Avikainen, H., Pahkala, K., Laine, A. (2005) Effects of sowing time on pink snow mould, leaf rust and winter damage in winter rye varieties in Finland. *Agricultural and Food Science*, 14 (4), pp. 362-376.
- Starkey D.E., Ward T.J., Aoki T., Gale L.R., Kistler H.C., Geiser D.M., Suga H., Toth B, Varga J., O'Donnell K. (2007) Global molecular surveillance reveals novel *Fusarium* head blight species and trichothecene toxin diversity. *Fungal Genetics and Biology*, 44: 1191–1204. doi:10.1016/j.fgb.2007.03.001.
- Tupits I. & Sooväli P. 2010. The occurrence and severity of rust diseases of winter rye in Estonian climatic conditions. *Agronomy Research* 8 (Special Issue III), 735–742.
- Turner A.S., Lees A.K., Rezanoor H.N. and Nicholson P. (1998) Refinement of PCR-detection of *Fusarium avenaceum* and evidence from DNA marker studies for phenetic relatedness to *Fusarium tricinctum*. *Plant Pathology*, 47, 278–288.
- Ward T.J., Bielawski J.P., Kistler H.C., Sullivan E., and O'Donnell K. (1990). Ancestral polymorphism and adaptive evolution in the trichothecene mycotoxin gene cluster of phytopathogenic *Fusarium*. *PNAS*, vol.99: 9278–9283
www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.142307199
- White, T.J. (1990) Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: *PCR Protocols, a Guide to Methods and Applications*, 315-322.
- Williams, K.J., Dennis, J.I., Smyl, C. *et al.* (2002) The application of species-specific assays based on the polymerase chain reaction to analyse *Fusarium* crown rot of durum wheat. *Australasian Plant Pathology*, 31: 119–127. <https://doi.org/10.1071/AP01079>
- Wilson A., Simpson D., Chandler E., Jennings P., Nicholson P. (2014) Development of PCR assays for the detection and differentiation of *Fusarium sporotrichioides* and *Fusarium langsethiae*. *FEMS Microbiology Letters*, 233: 69-76. doi:10.1016/j.femsle.2004.01.040
- Wiśniewska H., Stępień Ł, Waśkiewicz A., Beszterda M., Góral T., Belter J. (2014) Toxicogenic *Fusarium* species infecting wheat heads in Poland Central European Journal of Biology, 9: 163-172. DOI: 10.2478/s11535-013-0262-1.
- Yao X., Guo H., Zhang K., Zhao M., Ruan J., Chen J. 2023. *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Front. Microbiol.* 14:1160551. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1160551

Жуковская А. А. 2022. Распространенность и развитие ринхоспориоза в посевах озимой ржи в Беларуси. УДК 633.14 «324»:632.4 (476) [DOI: 10.47612/0135-3705-2022-46-81-88](https://doi.org/10.47612/0135-3705-2022-46-81-88).

Graudaugiem sastopamo *Fusarium* sugu specifiskie amplifikācijas un identifikācijas praimeris un toksīnus veidojošo genotipu noteikšanas marķieri

Nosakāmā suga/ toksīnus kodējošais gēns	Praimeris	Sekvence, 5'- 3'	Lokuss, piezīmes	Amplikons, bp	Reference
<i>Fusarium</i> ģints	EF1	ATGGGTAAGGARGACAAGAC	TEF sekvencēšana	variabls	O'Donnell et al., 1998
	EF2	GGARGTACCAGTSATCATGTT			
	EF1-F2	TCATCGGCCACGTCGACTCT	TEF - sekvencēšana (<i>barcoding</i>)		Boutigny et al., 2019
	EF1-R3	TACCAGCCTCGAACTCACCA			
	Fa	TCGTCATCGGCCACGTCGACTCT	TEF - sekvencēšana		Edel-Hermann et al., 2015
	Ra	CAATGACGGTGACATAGTAGCG			
	Fa+7	AACGTCGTCGTCATCGGCCACGTCGAC TCT	TEF - sekvencēšana		Karlsson et al., 2016
	Ra+6	ACATACCAATGACGGTGACATAGTAGC G			
<i>F. graminearum</i>	Fg16R	GGTAGGTATCCGACATGGCAA -3	Līnijas 1, 2, 6, 7	400-500	Koncz et al., 2008; Nicholson et al., 1998 (Orig.)
	Fg16F	CTACGGATATGTTGCGTCAA			
	Fg11F	CTCCGGATATGTTGCGTCAA		400	Wisnewska et al., 2014; Oriģ.?
	Fg11R	GGTAGGTATCCGACATGGCAA			
	Fg16NF	ACA GAT GAC AAG ATT CAG GCA CA		280	Koncz et al., 2008; Nicholson et al. 1998
	Fg16NR	TTC TTT GAC ATC TGT TCA ACC CA			
	Fp1-1	CGG GGT AGT TTC ACA TTT CCG		523	Aoki and O'Donnell 1999

<i>F. pseudograminearum</i>	Fp1-2	GAG AAT GTG ATG ACG ACA ATA			
<i>F. cerealis</i>	CroA R	CTCAGTGTCCCAATCAAATAGTCC		842	Wisnewska et al., 2014
	CroA F	CTCAGTGTCCACCGCGTTGCGTAG			
<i>F. avenaceum</i>	JiAR	CTGTAATAGGTTATTTACATGGGCG	Nestrādā <i>F. trinctum</i>		Turner et al., 1998
	JiAF	GCTAATTCTTAACTTACTAGGGGCC			
	FaF	AGCATTGTCGCCACTCTC		920	Wisnewska et al., 2014; Orig.?
	FaR	GTTTGGCTCTACCGGGACTG			
	FA- ITSF	CCA GAG GAC CCA AAC TCT AA		272	Schilling et al. 1996
	FA- ITSr	ACC GCA GAA GCA GAG CCA AT			
<i>F. culmorum</i>	C51F	ATGGTGAACCTCGTCGTGGC	=Fc01F		Wisnewska et al., 2014; Nicholson et al. 1998
	C51R	CCCTTCTTACGCCAATCTCG	=Fc01R		
<i>F. langsethiae</i>	FlangF3	CAAAGTTCAGGGCGAAAACCT			Fredlund et al., 2013; Wilson et al., 2004 (orig.)
<i>F. langsethiae/ sporotrichioides</i>	LanspoR1	TACAAGAAGACGTGGCGATAT			
	Lanspo	TACAAGAAGAGCGTGCGATAT	Tas pats, kas LanspoR1, tikai divi nt samainīti vietām	300	Wisnewska et al., 2014
<i>F. sporotrichioides</i>	FSporF1	CGCACAACGCAAACCTCATC	=Fspo; kā reverso LanspoR1 vai Lanspo	300	Wisnewska et al., 2014; Fredlund et al., 2013; Wilson et al., 2004 (orig.)
<i>F. poae</i>	FP82F	CAAGCAAACAGGCTCTCCACC		220	Wisnewska et al., 2014; Parry and Nicholson 1996
	FP82R	TGTTCCACCTCAGTGACAGGTT			

<i>F. tricinctum</i>	tri1	CGTGTCCCTCTGTACAGCTTTGA		215	Wisnewska et al., 2014; Orig.?
	tri2	GTGGTTACCTCCCGATACTCT			
<i>F. redolens</i>	Redolens-F	ATC GAT TTTCCC TTC GAC TC		386	Bogale et al., 2007
	Redolens-R	CAA TGA TGA TTGTGA TGA GAC			
<i>F. oxysporum</i>	PFO3	CGG GGG ATA AAT GCG G		70	Edel et al. 2000
	PFO2	CCC AGG GTA TTA CAC GGT			
<i>F. camptoceras</i>			Nav piejami		
<i>F. beomiforme</i>			Nav piejami		
<i>F. armeniacum</i> (= <i>F. acuminatum</i> subsp. <i>armeniaceum</i>)	FarspF1	GGGATGGTAAGACGATCTAC	<i>phosphate phosphase</i> <i>gene</i>	313	<i>Patent application</i> KR1020150147129A
	FarspR1	CTTCCATCATCACCTCTGAG			
<i>F. crookwellense</i>			Nav piejami		
<i>F. acuminatum</i>	FAC-F	GGG ATA TCG GGC CTC A		602	Williams et al. 2002
	FAC-R	GGG ATA TCG GCA AGA TCG			
<i>F. scirpi</i>			Nav piejami		
<i>F. compactum</i>			Nav piejami		
<i>F. equiseti</i>	FeF1	CATACCTATACGTTGCCTCG		389	Wisnewska et al., 2014; Original ?
	FeR1	TTACCAGTAACGAGGTGTATG			
<i>F. torulosum</i>			Nav piejami		
<i>PKS4</i>	PKS4_F	AGACGGCGCAACAAGGGCTG		355	Wisnewska et al., 2014; Original ?
	PKS4_R	GCAGTTGCCCGTGTCTGGACA			

<i>PKS13</i>	PKS13_1	CCCAGCCAAGCCCAGTACGC		532	Wisnewska et al., 2014; Original ?
	PKS13_2	ACAGCGGCTGACCTGGGTCA			
<i>TRI13</i>	TRI13DON-F	CATCATGAGACTTGTKRAGTTTGGG		216	Wisnewska et al., 2014; Original ?
	TRI13DON-R	GCTAGATCGATTGTTGCATTGAG			
<i>TRI13</i>	TRI13NIV-F	CCAAATCCGAAAACCGCAG		308	Wisnewska et al., 2014; Original ?
	TRI13NIV-R	TTGAAAGCTCCAATGTCTGTG			
<i>esyn1</i>	Esyn_1	GCCGTTGGCGAGCTGGTCAT		997	Wisnewska et al., 2014; Original ?
	Esyn_2	GCAAAGCACGCGTCAACGCA			
<i>esyn1</i> homologue	beas_1	TKGARCAGCGBCAYGAGACM		495	Wisnewska et al., 2014; Original ?
	beas_2	GGWCGRGGGAARTCRGTDGG			
<i>TRI3 3-AcDON</i>	TRI3F1325	GCATTGGCTAACACATGA		354	Wisnewska et al., 2014; Original ?
	TRI3R1679	TT(AG)TAGTTTGCATCATT(AG)TAG			
<i>TRI7</i>	TRI7F340	ATCGTGTACAAGGTTTACG		625	Wisnewska et al., 2014; Original ?
	TRI7R965	TTCAAGTAACGTTTCGACAAT			
<i>TRI3</i>	3CON	TGGCAAAGACTGGTTCAC	kopīgs visiem ķīmiskajiem tipiem <i>multiplex-PCR</i> kopā ar ķīmiskajam tipam specifisku praimeru		Starkey et al. , 2007; Ward et al., 2002
	3NA	GTGCACAGAATA TACGAGC	NIV	840	
	3D15A	ACTGACCCAAGCTGCCAT C	15ADON	610	
	D3A	CGCATTGGCTAACACATG-	3ADON	243	

<i>TRI12</i>	12CON	CATGAGCATGGTGATGTC	kopīgs visiem ķīmiskajiem tipiem <i>multiplex-PCR</i> kopā ar ķīmiskajam tipam specifisku praimeru		Starkey et al. , 2007; Ward et al., 2002
	12NF	TCTCCTCGTTGTATCTG G	NIV	840	
	12-15F	TACAGCGGTCGCAACTTC	15ADON	670	
	12-3F	CTTTGGCAAGCCCGTGCA	3ADON	410	

