

LATVIJAS UNIVERSITĀTE

BIRUTA BANKINA

Promocijas darbs

**NEĻĶU FIALOFORĀS VĪTES IEROSINĀTĀJA
PHIALOPHORA CINERESCENS
IZPLATĪBA UN BIOĻĢISKĀS ĪPAŠĪBAS**

**doktora grāda bioloģijā iegūšanai
(bioloģijas apakšnozare - botānika)**

Rīga 1995

SATURA RĀDĪTĀJS

Ievads	4
1. Literatūras apskats	5
1.1. Neļķu fialoforās vītes izplatība pasaulē	5
1.2. Fialoforās vītes simptomi	5
1.3. <i>Phialophora cinerescens</i> mikroskopiskās un koloniju morfoloģiskās pazīmes	6
1.4. Neļķu fialoforās vītes bioloģiskās īpatnības	7
1.5. Luminiscences izmantošanas iespējas vītes diagnostikā	10
1.6. Antagonistu izmantošanas iespējas neļķu vītes apkarošanā	11
Kopsavilkums par literatūru	14
2. Metodika	16
2.1. Izmēģinājumu mērķi un uzdevumi	16
2.2. Izmēģinājumu vieta	17
2.3. Vītes izplatības un tās ierosinātāju sugu sastāva noteikšana	17
2.4. <i>Phialophora cinerescens</i> morfoloģisko īpatnību, vītes simptomu un bioloģijas pētīšana	17
2.4.1. Patogēnu tīrkultūru iegūšana un neļķu inokulācijas metodes	17
2.4.2. Neļķu vītes intensitātes noteikšana	18
2.4.3. <i>Phialophora cinerescens</i> koloniju morfoloģisko pazīmju un mikroskopiskās uzbūves noteikšana	18
2.4.4. <i>Phialophora cinerescens</i> bioloģisko īpašību pētīšana	19
2.5. Fialoforās vītes diagnostika, izmantojot luminiscences mikroskopu	21
2.6. Iespējamo <i>Phialophora cinerescens</i> antagonistu pārbaude	22
3. Rezultāti	24
3.1. Neļķu vītes izplatība Latvijā	24
3.2. Vītes ierosinātāju sugu sastāvs Latvijā	26
3.3. Neļķu fialoforās vītes diagnostika	29
3.3.1. Neļķu fialoforās un fuzariālās vītes simptomi	29
3.3.2. <i>Phialophora cinerescens</i> koloniju morfoloģiskās īpatnības	32
3.3.3. <i>Phialophora cinerescens</i> mikroskopiskā uzbūve	40
3.3.4. Konīdiju dīgšana	45
3.4. <i>Phialophora cinerescens</i> specializācija	46
3.5. Inficēšanās process	49
3.5.1. Inkubācijas periods un patogēna iekļūšana augos	49
3.5.2. <i>Phialophora cinerescens</i> saglabāšanās un izplatīšanās iespējas	55
3.6. <i>Phialophora cinerescens</i> diagnostēšana ar luminiscences mikroskopu	60

3.7. Antagonistu pielietošanas iespējas neļķu fialoforās vītes ierobežošanā	64
Secinājumi	75
Izmantotā literatūra	76
Pielikumi	

IEVADS

Neļķes ir vienas no plašāk audzētajām ziedu kultūrām pasaulē. Šobrīd mūsu ikdienā ienāk daudzi jauni, eksotiski ziedi. Un tomēr arī neļķes, pateicoties to izturībai un ziedu krāsu daudzveidībai vēl aizvien ir iecienītas, sevišķi jaunās un interesantās šķirnes.

Neļķu audzēšanu, it īpaši lielās platībās, pielietojot industriālās tehnoloģijas, ierobežo slimību, tai skaitā arī vītes, straujā izplatība. Patogēnu izplatīšanos veicina jaunu, līdz tam nepazīstamu šķirņu introdukcija un stādāmā materiāla ieviešana no ārzemēm.

Astoņdesmito gadu beigās I/u "Meristēmu kultūra" speciālisti konstatēja, ka bieži vien no ārēji veselīgiem neļķu mātesaugiem iegūtiem dēstiem vairākus mēnešus vēlāk novērojamas vītes pazīmes. Toreizējā VAAI vec. zin. līdzstr., biol. zin. dokt. V. Potlaičuka identificēja vītes ierosinātāju- *Phialophora cinerescens* (syn. *Verticillium cinerescens*.) van Beyma. Lai risinātu jautājumu par šī patogēna diagnostikas metodēm un ierobežošanu, I/u "Meristēmu kultūras" un LLU Augu Aizsardzības katedra noslēdza līgumu. Darbs tika veikts V. Potlaičukas vadībā.

Pēdējos trīsdesmit gados fialoforā vīte visā pasaulē atzīta par nozīmīgāko un ekonomiski bīstamāko neļķu slimību. Tomēr pētījumu par šo patogēnu ir ļoti maz. Atsevišķi darbi ir publicēti Francijā un Itālijā, astoņdesmito gadu beigās arī Krievijā. Mūsu valstī *Phialophora cinerescens* nav pētīts vispār, Latvijā tradicionāli tiek uzskatīts, ka vīti ierosina tikai *Fusarium oxysporum* un *Phialophora cinerescens* pieskaitīts karantēnas objektiem.

Tomēr šo patogēnu bioloģija un ekoloģiskās prasības ir atšķirīgas, tādēļ neļķu vītes efektīvai, bioloģiski pamatotai ierobežošanas sistēmas izstrādāšanai nepieciešami pētījumi par *Phialophora cinerescens* izplatību Latvijā un šī patogēna attīstības īpatnībām mūsu apstākļos. Īpaša uzmanība jāpievērš patogēna identifikācijas metožu izstrādāšanai, jo tikai precīza slimības ierosinātāja noteikšana ļauj izvēlēties optimālus un iespējami ekonomiskus augu aizsardzības paņēmienus.

Phialophora ģints sēnes dabā plaši izplatītas uz dažādiem substrātiem. Sastopamas fitopatogēnas sugas, atsevišķos gadījumos izraisa saslimšanu arī cilvēkiem. Uz augiem šīs sēnes parasti izraisa traheomikozes, nekrozes vai puves. *Phialophora cinerescens* pētīšana lielā mērā var palīdzēt identificēt citas šīs ģints sēnes, kā arī dziļāk izprast inficēšanās procesu, ja slimības ierosinātājs pieder traheomikozēm.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Neļķu fialoforās vītes izplatība pasaulē

Neļķu vītes pazīstamas jau kopš pagājušā gadu simta, mūsu gadsimta sākumā tās tiek atzītas par nozīmīgākajām neļķu slimībām, kas rada vislielākos ekonomiskos zaudējumus.

Ilgu laiku tika uzskatīts, ka neļķu vīti ierosina *Fusarium oxysporum* var. *dianthi*. Taču jau 1935 gadā Wickens izolēja vēl vienu patogēnu, ko sākotnēji identificēja kā *Verticillium cinerescens* (Wicken, 1935), un tikai vēlāk konstatēja, ka šis patogēns pieder *Phialophora* ģintij. Šobrīd uzskata, ka neļķu fialoforo vīti ierosina *Phialophora cinerescens* (syn. *Verticillium cinerescens*) van Beyma.

Mūsu gadsimta sešdesmitajos gados konstatēta strauja *Phialophora cinerescens* izplatība Francijā [Moreau, 1958, 1963]. Pēdējos gadu desmitos šī slimība nodara ievērojamus zaudējumus Amerikā, Kanādā, Anglijā, Itālijā, Beļģijā, Čehoslovākijā, Grieķijā un citur [Bishop, Cooper, 1984, Garibaldi, 1969, Nilsson, 1965, Sheir et al., 1982, Zadoks, 1986, Симомян, Мамикаян, 1988]. Kanādā *Phialophora cinerescens* pirmo reizi izolēta un identificēta 1978. gadā. Šobrīd Bulgārijā *Phialophora cinerescens* uzskata par vispostošāko neļķu slimību [Димитров, 1978].

Krievijā *Phialophora cinerescens* pirmo reizi atrada un arī identificēja Salovs un Kuļibaba Melnās jūras piekrastē [Кулибаба, 1969, 1974, Салов, 1981]. Vēlāk Maskavas apkārtnē šo patogēnu izolēja un identificēja Vodojavļenskaja un Saveļjeva [Вороненко и др., 1978, Водоявленская, 1978, Савельева, 1975]. Astoņdesmito gadu beigās šīs slimības pētīšanai pievērsās Ahmeds Sankt-Pēterburgas apkārtnē un Froļakina Maskavā [Ахмед, 1990, Фролякина, 1989].

Neļķu fialoforā vīte pēdējos gados atrasta arī Lietuvā [Гедраускас, 1981, Шеншкене, Стручинскас, 1988, Gedaugas, Žukliene, 1989].

Phialophora cinerescens Latvijā konstatēta astoņdesmito gadu beigās uzņēmumā "Meristēmu kultūra" (Potlaičukas nepublicētie dati).

1.2. Fialoforās vītes simptomi

Wickens (Wicken, 1935) *Phialophora cinerescens* izdalīja no novītušajiem dzinumiem, taču vīšanu izraisa arī dažādas *Fusarium* sugas - *F. culmorum*, *F. herbarum*, un tipiskā traheomikoze *Fusarium oxysporum*. Tbilisi apkārtnē no neļķēm izdalīti- *F. avenaceum*, *F. sambucinum*, *F. solani* un *F. oxysporum*. Kolumbijā no novītušajām neļķēm izdalīta *Fusarium graminearum* [Linifield, 1987].

Pētījumos bieži konstatēta kombinētā infekcija. Turklāt no novītušajiem augiem reizēm tiek izdalīti arī citi patogēni- *Rhizoctonia spp.*, *Pythium spp.*, *Phytophthora spp.* Tādēļ ļoti grūti aprakstīt specifiskos fialoforas simptomus, jo vairāk vai mazāk, bet vītes simptomi visos gadījumos ir līdzīgi, arī tad, ja to izraisa neparazitāri cēloņi - kļūdas agrotehnikā utt.

Vairums autoru atzīmē, ka pirmais un nozīmīgākais fialoforās vītes simptoms ir dažu dzinumu vai pat tikai to daļu turgora zudums. Atsevišķas lapas kļūst pelēcīgas, vēlāk salmu dzeltenas ar sārtu nokrāsu. Reizēm uz vēl zaļajām lapām vērojami violeti plankumi, lai gan šo simptomu atzīmē tikai atsevišķi autori, iespējams, tas atkarīgs no neļķu šķirnes. Dzinumu pārgriežot, redzams nobrūnējis vadaudu gredzens, reizēm tas aptver visu dzinumu, reizēm tā daļu [Harry, Mussel, 1970, Peresse, 1974, Микроваб, Ванеев, 1986, Митрофанова, Зленко, 1981, Савельева, 1975]. Slimībai attīstoties, uz dzinumiem pelēki violeti plankumi, kas plaisā. Stipras infekcijas gadījumā pumpuri neattīstās, vai arī neuzzied. Vairums autoru uzskata, ka pirmās sāk vīst apakšējās lapas, saknes parasti nav bojātas. Salovs novērojis atsevišķu, īpaši sīko, saknīšu bojā eju [Салов, 1980].

Onofraš uzskata, ka traheomikožu izpausmes forma lielā mērā atkarīga no konīdiju formas. Ja tās ir sīkas, sporas var tikt paceltas vadaudu sistēmā, bet, ja lielas un sarežģītas, tās spiestas koncentrēties sakņu kakliņa rajonā un parasti izraisa sakņu puves. Šo hipotēzi it kā apstiprina *Phialophora cinerescens* un dažādu *Fusarium* sugu atšķirīgās izpausmes formas. *Phialophora cinerescens*, kam konīdijas ir sīkas un *Fusarium oxysporum*, kas veido daudz mikrokonīdiju, ierosina tipiskas traheomikozes, bet pārējās *Fusarium* ģintis - sakņu puves [Онофраш, 1984].

1.3. *Phialophora cinerescens* mikroskopiskās un koloniju morfoloģiskās pazīmes

Phialophora cinerescens pirmoreiz izdalīta 1935 gadā, pēc citiem datiem-1929. gadā. Taču sēnes taksonomisko vietu noteica Van Beyma Kingma 1943. gadā [Van Beyma, 1943], vēlāk ar šo jautājumu nodarbojās M. Moreau, V. Potlaičuka un citi [Moreau, 1963, Schol-Schwarz, 1970, Потлайчук, 1971].

Phialophora cinerescens van Beyma, syn *Verticillium cinerescens* pieder *Deuteromycetes*, *Hypnomycetales* rindai, *Dematiaceae* dzimtai. Šis ģintis sēnēm liela nozīme dabā un cilvēku dzīvē, tās izplatītas uz dažādiem substrātiem, sastopamas fitopatogēnas sugas, atsevišķos gadījumos izraisa saslimšanu arī cilvēkiem. Uz augiem parasti izraisa traheomikozes, nekrozes, puves. Biežāk sastopamas *P. malorum*, *P. atra*, *P. brunescens*, *P. lignicola* [Ошхерели, 1973, Цакадзе, 1970].

Konkrēti par *Phialophora* ģints mikroskopiskajām un koloniju morfoloģiskajām īpatnībām pētījumu ir ļoti maz. Nozīmīgākie no tiem- Salova un Potlaičukas darbi [Потлайчук, 1971, Потлайчук, Хлопунова, 1986, Салов, 1986].

Salovs veicis patogēna pētījumus tīrkultūrā. Uz Čapeka barotnes kolonija balti pelēkā krāsā, centrā nedaudz piepacelta, micēlijs klājas virs substrāta. Sastopams divu veidu micēlijs- pūkains, irdens, gaiši pelēks, kas paceļas virs substrāta un tumši peļu pelēks uz substrāta virsmas. Koloniju malas pamatā nelīdzenas, reizēm novērojamas koncentriskas joslas. Zonalitāte parasti vairāk izteikta, ja sēne tiek pakļauta krasām temperatūras svārstībām. Substrāts krāsojas dzeltenīgi pelēkā krāsā.

Phialophora ģints sistemātiku pētījusi V. Potlaičuka. Viņa aprakstījusi *Phialophora cinerescens* mikroskopiskās pazīmes. Hifas ir sikas, ar plāniem šūnapvalkiem, bieži izliektas. Hifu diametrs 1-3 μm, dažas šūnas bieži vien neregulāri uzpūstas līdz 5 μm. Konīdijas novietotas uz fialīdām, kas sakārtotas vēdekļveida slotiņās. Sēnes konīdijnesēji jeb sterigmas pudeļveida, pa lielākai daļai visplatākā vieta novērojama vidējā sterigmas daļā. *Phialophora cinerescens* raksturīga pazīme- fialīdu vēdekļveida slotiņa. Ir dažādi uzskati par sporu veidošanos- vai nu tās veidojas endogēni, vai arī eksogēni- hifām noārdoties. Jaunās konīdijas vairāk vai mazāk bezkrāsainas, eliptiskas formas, apakšējais gals nedaudz nosmailots. Iespējams konīdijā ieslēgts eļļas piliens. Vecākās konīdijas ir tumšā krāsā, ar biežāku šūnapvalku un regulārāku formu. Konīdijas ir viensūnas, to izmēri svārstās no 2 līdz pat 6 μm. Šie skaitļi dažādos literatūras avotos norādīti dažādi.

Phialophora cinerescens kolonijas uz mākslīgajām barotnēm aug ļoti lēni. Potlaičuka atzīmē, ka 21 dienā pēc uzsēšanas kolonijas diametrs sasniedza tikai 2,8 - 3,7 cm. Viņa konstatējusi, ka substrātā palielinot amonija savienojumu daudzumu un monosaharīdus aizstājot ar disaharīdiem, *Phialophora* ģints sēnes intensīvi veido konīdijas (Потлайчук, 1971).

Grebeņuks Bulgārijā konstatējis vairākus *Phialophora cinerescens* celmus, kas atšķīroties pēc mikroskopiskajām pazīmēm [Гребенюк, 1988], dažādi sēnes celmi atrasti arī Sankt- Pēterburgas apkārtnē [Ахмед, 1990], taču citi autori tamlīdzīgus datus nemin.

1.4. Neļķu fialoforās vītes bioloģiskās īpatnības

Literatūrā ir vispretrunīgākās ziņas par šīs slimības inkubācijas perioda ilgumu. Salovs pirmos vītes simptomus novērojis 6-8 mēnešu vecos neļķu stādījumos. Kanādas zinātnieki uzskata, ka inkubācijas periods nepārsniedz divus mēnešus, parasti augi aiziet bojā jau pēc 49 dienām. Pēc viņu domām, inkubācijas periods nav atkarīgs no temperatūras. Kuļibabas un Salova

pētījumos atzīts, ka inkubācijas periods ir 29-89 dienas, pēc citiem literatūras avotiem 40 - 70 dienas, vai arī 45 - 106 dienas. Nav vienprātības jautājumā par to, kādi apstākļi tad īsti ietekmē inkubācijas perioda garumu, tiek minēta temperatūra, vai arī tās ietekme noliegta, augu vispārējais fizioloģiskais stāvoklis, šķirne, audzēšanas agrotehnika vai pat katras atsevišķas neļķes īpatnības.

Vairums autoru uzskata, ka *Phialophora cinerescens* attīstības optimālā temperatūra ir 18-23 °C grādi [Moreau, 1958, Wickens, 1935], pēc citām ziņām 14-15 °C [Салов, 1986]. Inficēšanās vislabvēlīgākā temperatūra ir 14-18 °C. Inkubācijas periods pagarinās, ja temperatūra nepārsniedz 15 °C. Tātad, *Phialophora cinerescens* optimālās temperatūras atrodas robežās, kas ir vēlamas arī neļķu augšanai un ziedēšanai. Šis ir viens no faktoriem, kas nosaka fialoforās vītes bīstamību atšķirībā no *Fusarium oxysporum*, jo šī sēne labāk attīstās 25 °C grādu temperatūrā, tātad, tā bīstama vairāk vasaras periodā. *Phialophora cinerescens* optimālais augsnes mitrums 75-80 %. Tiek uzskatīts, ka Eiropā šī slimība visbīstamākā no maija līdz novembrim, lai gan, ievērojot visu iepriekš teikto, šis secinājums liekas visai apšaubāms.

Phialophora cinerescens vairojas ar konīdijām. Sporas atrastas sēnes tūrkultūrā, augsnē un saimniekaugā. Konīdiju izdzīvošana augsnē galvenokārt atkarīga no augsnes temperatūras un mitruma, ja t° ir 10-17 °C, konīdijas saglabājas piecus mēnešus, t° paaugstinoties, to izdzīvošanas laiks samazinās. Ja augsne ir sausa (ap 2 %) sporas spēj saglabāties divus gadus [Nilsson, 1965]. Nīderlandē novērots, ka patogēns augsnē dzīvo daudzus gadus kā saprofits. Vēl 13 gadus pēc neļķu audzēšanas pārtraukuma novērota augu inficēšanās. *Phialophora cinerescens* grūti iznīcināma augsni dezinficējot, jo tā saglabājas 80 cm dziļumā [Zadoks, 1986].

Konīdijas vislabākajos apstākļos sadīgst 20 stundu laikā un pēc 20 dienām var sasniegt augu galotni. Pēc citām ziņām, sporas ksilēmā nemainīgā veidā saglabājas 4-6 nedēļas un tikai tad sāk attīstīties, sākumā lēnāk, tad arvien straujāk [Moreau, 1963, 1978].

Konstatēta sēnes augšana augsnē, optimālos apstākļos sēnes hifu garums dienā palielinās par 2,2 mm un blakus esošie augi inficējas pēc diviem mēnešiem [Nilsson, Dimock, 1964]. Patogēna pārvietošanās no auga uz augu ir lēns process, un infekcijas perēkļu veidošanās galvenokārt saistīta ar sēnes propagulu saglabāšanos augsnē, nevis patogēna pārvietošanos.

Tiek uzskatīts, ka inficēšanās notiek tikai caur saknēm, taču ir dažādi viedokļi par to, vai *Phialophora cinerescens* spēj inficēt augu, ja tas nav ievainots un segaudi ir pilnīgi veseli [Dimond, 1970, Nilsson, Nelson, 1964, Вороненко и др, 1978, Салов, 1986]. Wickens uzskata, ka inficēšanās atkarīga no citu sugu mikroorganismu klātbūtnes augos un augsnē.

Phialophora cinerescens, izņemot neļķes, kas ir to galvenais saimniekaugs, konstatēta arī uz citu ģinšu augiem- *Saponaria*, *Agrostemma*, *Lychnis*, *Petrocoptis*, *Gypsophila*, *Saponaria*, *Silene*, *Helianthus*.

Pasaulē ir izveidotas daudzas neļķu šķirnes, kas ir vairāk vai mazāk rezistentas attiecībā pret *Fusarium oxysporum*, taču līdz šim pasaulē nav pazīstamas pret *Phialophora cinerescens* izturīgas šķirnes. Šobrīd ir tikai atsevišķi pētījumi Itālijā (Garibaldi, 1984) par rezistences mehānismu. Krievijā (Ахмед, 1990) pētījis atsevišķu šķirņu izturību ražošanas apstākļos.

Principā tiek uzskatīts, ka patogēni, tai skaitā arī traheomikožu ierosinātāji, ir tikai slimības faktori, bet ne cēloņi. Slimības intensitāte lielā mērā atkarīga no apkārtējās vides apstākļiem. Slimības simptomus ierosina fermenti vai specifiski toksīni, ko veido patogēns [Harling et. al., 1988, Harling, Taylor, 1985].

Pētot *Fusarium oxysporum* un dažas *Phialophora* sugas- *P. atra*, *P. malorum*, konstatēts, ka patogēni izdala toksīnus, kuru ietekmē novērojamas vītes pazīmes. Pētot višanas mehānismu, konstatēts, ka galvenokārt traucēts ūdens uzņemšanas process. Principā to izraisa divi cēloņi: 1) vadaudi tiek mehāniski aizsprostoti ar sēnes propagulām, visbiežāk micēliju, 2) fermentu darbības rezultātā tiek traucētas membrānu funkcijas.

Bagaturija (Баратурия, 1990) uzskata, ka traheomikozes izdala vairākas fermentu grupas - vispirms pektolītiskie fermenti veicina patogēnu iekļūšanu cauri segaudiem, tad celulāzes sadala šūnu sienīgas, tādējādi rosina šo sēņu augšanu tieši augu šūnās. Visbeidzot toksīni, kuru ķīmiskais sastāvs nav īsti skaidrs, izraisa šūnu nekrozi.

Liela uzmanība pievērsta neļķu reakcijai pēc *Phialophora cinerescens* iekļūšanas vadaudu sistēmā [Bishop, Cooper, 1983, Beckman, 1987]. Tiek uzskatīts, ka pēc iekļūšanas augā sporas vispirms pārņem trahejas vertikālā virzienā un horizontāli spēj izplatīties tikai caur interpunkcijas vietām. Auga reakcija uz patogēna iekļūšanu ir lokāla un arī novēlota, iekļūšanas vietā veidojas tā sauktā "gumijotā" viela, polisaharīdiem bagāti uzbiezīnājumi. Visos gadījumos atzīmēta vadaudu reģenerācija. Moreau uzskata, ka šim procesam ir divi cēloņi - vadaudu pārkoksnēšanās un to gomoze jeb pārsveķošanās. Konstatēts, ka neļķes krasī savādāk reaģē uz *Phialophora cinerescens*, kas ir tipisks neļķu parazīts, un *Verticillium cinerescens*, kas tāpat ir vadaudu parazīts, bet ar plašu saimniekaugu loku [Andrucci, 1969, Baayen, 1986]. Ja augā iekļūst *Phialophora cinerescens*, reaģē gan ksilēma, gan parenhīma. Veidojas kalluss, šajā periodā neļķēs konstatē dažādus sarežģītus ķīmiskos savienojumus - fenolus, polisaharīdus un lignīnu [Aloni, Zimmerman, 1983, Baayen, Elgersma, 1985, Pegg, 1985, Pennypacker, Nelson, 1972]. Vander Mollens (Vander Mollen, 1983). Konstatēts, ka neskatoties uz to, ka patogēns attīstās ksilēmā, reaģē arī floēma. Ksilēmas šūnas reizēm hipertrofētas, bet floēmas - kroplīgas [Cain, 1952, Dimond, 1970, Cygudda, Garibaldi, 1987]. Tomēr šo vielu

veidošanās nevar aizkavēt *Phialophora cinerescens* attīstību, jo reakcija ir novēlota. Sēne aug tieši vadaudos, veidojot micēliju un konīdijas. Parasti uzskata, ka sēnes klātbūtne vienmēr iet pa priekšu simptomiem, tomēr ir arī pretējs viedoklis, patogēna darbības rezultātā radušies metabolīti izraisa vītes simptomus augstākajās auga daļās, nekā atrodamā *Phialophora cinerescens*. Tas arī rada vislielākās grūtības fialoforās vītes diagnostikā.

Pētot neļķu šķirnes, kas ir izturīgas pret *Fusarium oxysporum*, konstatēts, ka stublājos paaugstināts fenolu un oksidējošo fermentu līmenis. Vītes ierosinātāji producē poligalaktosi, īpaši ieņēmīgo šķirņu audos. Parasti šī fermenta daudzums korelē ar slimības simptomu intensitāti.

1.5. Luminiscences izmantošanas iespējas vītes diagnostikā

Pēdējā laikā dažādu praktisku problēmu, tai skaitā arī augu aizsardzībā, risināšanā tiek izmantota luminiscences parādība. Luminiscence nozīmē audu spīdēšanu, kas novērojama, mikroskopā caurskatot preparātus ultravioletajā gaismā. Parasti ultravioleto gaismu iegūst, izmantojot dzīvsudraba lampas. Pētījumos lieto tā saukto primāro luminiscenci - tas ir audu dabisko spīdēšanu vai arī sekundāro luminiscenci, ja preparāti pirms tam krāsoti ar fluorescējošām krāsvielām [Андреев, Мартенс, 1982]. Ar šo metodi iespējams konstatēt mikroskopiskus bioloģiski aktīvo vielu daudzumus dažādos substrātos, dažādu mikroorganismu un sēņu klātbūtni produkcijā [Андреев, 1982].

Luminiscences mikroskops sekmīgi izmantots, ja nepieciešams noteikt sēņu propagulu dzīvotspēju. Tādējādi tiek uzskaitītas dzīvotspējīgās *Entomophora grulli* un *Entomophthora maimaiga* sporas [Firstencel et al., 1990]. Krievijā ar šo metodi noteikta patogēno sēņu klātbūtne graudos [Заар и др., 1977].

Ir pietiekami daudz pētījumu, kur šo metodi izmanto patogēna identificēšanai, atsevišķos gadījumos ar šo metodi iespējams konstatēt slēpto infekciju. Krievijā šos jautājumus pētījis Laijošs Radičs. Panākumi gūti, konstatējot labību rūsu, kartupeļu fitoftorozi un saulespuķu un tabakas neīsto miltrasu. Viņš salīdzinājis daudzas ierīces, lai atrastu optimālo variantu, par labākajām atzīti- ЛУМ-2, Л-350, ar labiem panākumiem izmantots gaismas filtrs- УФС-3 [Лайош, 1969].

Izmantojot luminiscento metodi, tas ir - mikroskopā novērtējot iepriekš inficētu kartupeļu lapu (patogēns *Phytophthora infestans*) spīdēšanu, luminiscence novērota jau 12 stundas pēc inficēšanas, ievērojami ātrāk nekā parādās slimības simptomi. Konstatēts, ka šī metode precizitātes ziņā atpaliek no bioloģiskās, bet ir ievērojami precīzāka par citām zināmajām ekspresdiagnostikas metodēm. Neapšaubāma metodes priekšrocība ir iespēja

datu iegūti praktiski vienas diennakts laikā, šai pašā gadījumā bioloģiskā metode prasa vismaz nedēļu [Лайош, 1969].

Īpaša uzmanība pievērsta kokvilnas vītes diagnostikai. Kokvilnas stādījumos visbīstamākā slimība ir verticilārā vīte (ier. *Verticillium albo-atra*). Izmantojot luminiscences mikroskopu, izdevās konstatēt augu saslimšanu pirms simptomu parādīšanās. Metodes pamatā - audu spīdēšana inficētajā stublāja šķērsgriezumā. Vēlāk izveidota pārvietojama ierīce, tā saucamais "viltoskops", kas tiek sekmīgi izmantots vītes diagnostikai lauka apstākļos [Ланецкий, 1969, 1974, 1975, 1984, Гусева, 1969, Ланецкий, Поспелова, 1985].

Parazīta un saimniekauga mijiedarbības rezultātā augā uzkrājas fenola tipa savienojumi, kas parasti fluorescē ultravioletajā starojumā. Tiek uzskatīts, ka šie savienojumi galvenokārt uzkrājas izturīgo šķirņu audos, jo ir tieša pretreakcija no auga puses. Tas dod pamatu izmantot šo metodi, novērtējot kultūraugu šķirņu izturību pret konkrētiem patogēniem [Ланецкий, 1966, Рубин и др., 1974].

Luminiscences mikroskops izmantots arī neļķu vītes diagnostikai, autori uzskata, ka šādā veidā iespējams identificēt dažādas neļķu slimības, tai skaitā arī neļķu vīti, ja ierosinātais ir *Phialophora cinerescens*. Bonifacio un Rumine mikroskopā, izmantojot dzīvsudraba lampas, pārbaudīja mākslīgi un dabiski inficētus neļķu spraudņus. Pirms mikroskopēšanas neļķu stublāju gabaliņi fiksēti, sasaldēti un gatavoti ultraplānie griezumā [Bonifacio, Rumine, 1984]. Veselie audi luminiscēja ar vienmērīgu zaļu gaismu, bet audi, kas patogēnu darbības rezultātā sāka sairt, luminiscēja brūni. Autori uzskata, ka metode ir izmantojama inficēšanās procesa pētīšanai slimības agrās attīstības stadijās.

1.6. Antagonistu izmantošanas iespējas neļķu vītes apkarošanā.

Neļķu vītes un sakņu puves nodara ārkārtējus zaudējumus ziedu audzētājiem, tādēļ tiek veikti ļoti daudzi pētījumi par šo slimību apkarošanu. Tradicionāli tiek lietoti fungicīdi. Tbilisi apkārtnē pārbaudīti vairāki sistēmiskie fungicīdi- fundazols, tilts, ridomils, ВМК, tomēr bez īpašiem panākumiem, slimību izplatība samazināta tikai par dažiem procentiem. Zināmu efektivitāti uzrādīja atsevišķi fungicīdi- mugibons, kaliruss, vitavakss 200-np un homajs-80 [Кулибаба, 1968, Салов, 1981]. Novērots, ka vītes ierosinātajai, tai skaitā arī *Fusarium oxysporum* un *Phialophora cinerescens*, ātri iegūst imunitāti pret dažādu ķīmisko grupu fungicīdiem [Pionnat, 1971, Rumine, Parrini, 1982, Garibaldi, 1985]. Likumsakarīgi, ka pētnieku uzmanība arvien vairāk pievēršas antagonistu izmantošanas iespējām, gan cenšoties panākt iespējami efektīvāku neļķu aizsardzību, gan rūpējoties par vides aizsardzību un cilvēku veselību.

Mikoparazitismu var definēt kā sēņu augšanu ciešā kontaktā ar citām, izmantojot tās kā barības avotus. Praktiski tiek pielietoti arī nekrotrofie

mikroorganismi- vispirms šūnas nonāvē, un tad izmanto kā barības avotus. Ir sēnes, kas parazitē uz dzīvām sēnēm- uz dažādām rūsu sugām attīstās *Sphaerolopsis (Darluc) filum*, bet biežāk tiek izmantotas sēnes, kas dzīvo augsnē, un var eksistēt uz ļoti plaša saimniekaugu loka. Tās iznīcina sēņu hifas, sporas un atsevišķos gadījumos pat sklerocijus (Whipps, 1992).

Bioloģiskā augu aizsardzība ir ļoti sarežģīta, jo mijiedarbojas dažādi, reizēm ļoti daudzi dzīvie organismi. Pašlaik galvenokārt pētījumi vērsti sekojošos virzienos: 1) tiek izmantotas dabiskas vai daļēji dabiskas augsnes ar izcili bagātu mikrofloru, kā rezultātā šīm augsnēm piemīt supresīvās īpašības, 2) no augsnēm tiek izdalīti mikroorganismi ar antagonistiskām īpašībām un vēlāk ievadīti augsnē, lai aizsargātu konkrētu kultūraugu, 3) īpaši aktīvu mikroorganismu celmu selekcionešana, šim virzienam perspektīvā varētu būt vislielākā nozīme.

Galvenā problēma- panākt, lai ievadītie mikroorganismi spētu iedzīvoties un vairoties viņiem jaunajā, svešajā vidē. Tādēļ darbā ar antagonistiem ievēro principiālo shēmu: 1) antagonistus pārbauda laboratorijā, izmantojot tīrkultūras un mākslīgās barotnes, 2) veģetācijas izmēģinājumi, kur tiek meklētas optimālās antagonistu devas un dažādi apstākļi, kas veicina to iedzīvošanos, 3) ražošanas izmēģinājumi. Parasti vairāk vai mazāk labus rezultātus izdodas iegūt darba pirmajos etapos, bet ļoti grūti efektu panākt ražošanas apstākļos. Visumā jāatzīmē, ka visbiežāk eksperimenti lielā mērā veikti empīriski, jo nav dziļāku pētījumu par dažādu mikroorganismu bioloģiju un to savstarpējām attiecībām [Whipps, 1992].

No augsnēm, kas stipri piesārņotas ar *Fusarium oxysporum*, izdalīta *Alcaligenes spp.*, kam, pārbaudot, konstatētas antagonistiskas īpašības attiecībā pret *Fusarium oxysporum*.

Tiek uzskatīts, ka *Fusarium oxysporum* antagonisti varētu būt meklējami neļķu rizosfērā. No šīs zonas izolētas *Serratia liquefaciens* un *Hafnia alvei*, šiem mikroorganismiem konstatētas antagonistiskas īpašības attiecībā pret *Fusarium oxysporum*.

Axmeds pārbaudījis *Trichoderma lignorum* un *Gliocladium roseum* kā iespējamus *Phialophora cinerescens* un *Fusarium oxysporum* antagonistus. Aizsargājošais efekts saglabājas tikai 15 - 30 dienas [Axmed, 1990].

Īpaša uzmanība veltīta supresīvo augšņu izmantošanai, atsevišķos eksperimentos šo augšņu pielietošana samazina slimības izplatību par 18 - 66%. No augsnēm, kam konstatētas supresīvās īpatnības, izdalītas dažādas *Alcaligenes*, *Pseudomonas* un *Bacillus* sugas. Bet visplašāk lieto *Bacillus subtilis*. Garibaldi īpaši pievērš uzmanību supresīvajām augsnēm, tiek uzskatīts, ka ir dabiskās un inducētās supresīvās augsnes. Pamatā to nosaka augšņu fizikālās īpašības un mikroflora. Lai pastiprinātu augsnes supresīvās īpašības, vienlaicīgi tās daļēji dezinficējot un paplašinot mikroorganismu sastāvu, pētītas

dažādas priedes, ko pievieno augsnēm- zāģu skaidas, priedes un cglu mizas [Tramier et al., 1983, Garibaldi, 1984, Garibaldi, Brunatti, 1985].

Fusarium oxysporum attīstībā un slimības intensitātē liela nozīme tieši augsnei, kurā audzētas neļķes. Īpaši stipri neļķes slimoja, ja audzētas augsnē, kas sastāvēja no augsnes un kūdras, bet vismazāk, ja kā substrātu izmantoja augsni maisījumā ar kūtsmēsliem. Vītes izturību veicināja arī paaugstināts augsnes pH, tātad palielināts kalcijs daudzums augsnē. Augsnes skābums neatstāja tiešu ietekmi uz *Fusarium oxysporum* propagulu daudzumu augsnē, taču tas ietekmēja augsnes mikrobioloģisko aktivitāti, kas acīmredzot arī noteica slimības attīstību neļķu stādījumos.

Froļakinas pētījumos konstatēts, ka *Fusarium oxysporum* augšanu paātrina kūdras substrāti, samazina zāģu skaidas un mizas. Viņa iesaka pirms neļķēm audzēt dažādus kultūraugus, ko pēc tam iear zemē. Saslimšanu ar vīti samazina rudzi, rapsis, pērkone, sinepes [Фролякина и др., 1989, Фролякина, 1990].

Polijā konstatēts, ka veca priežu meža augsnes supresīvas attiecībā pret neļķu fuzariālo vīti. No šīm augsnēm izolētas *Trichoderma* un *Pennicillium* ģints sēnes. Ja šo sēņu maisījumu ievada apkārt neļķu saknēm, vīte aizkavēta piecus mēnešus (Manka, Fruzyska-Jozwiak, 1992).

Itālijā pārbaudītas dažādas augsnes, ar dažādām fizikāli ķīmiskām īpašībām. No augsnēm, kam konstatētas supresīvās īpašības, izolēti vairāki *Fusarium oxysporum* nepatogēnie celmi, kas bija spējīgi ierobežot linu vīti. Tāpat izolēti arī nepatogēnie *Fusarium roseum* un *Fusarium solani* celmi, tomēr iegūtie rezultāti ļauj secināt, ka augšņu supresivitāti nosaka tieši *Fusarium oxysporum* klātbūtne. Nepatogēno *Fusarium* celmu daudzums un aktivitāte nav atkarīga no augšņu fizikāli - ķīmiskajām īpašībām [Garibaldi, Brunatti, 1985, Garibaldi, 1987].

Pētītas *Fusarium oxysporum var dianthi* nepatogēnie celmi, šo celmu pielietošana spēj ierobežot neļķu vīti, lai gan iedarbības mehānisms nav skaidrs. Pašlaik nav iespējama šīs metodes praktiska pielietošana, jo nepatogēnie celmi nespēj daudz maz ilgstoši kolonizēt ne saknes, ne stublājus (Postma, 1992). Līdzīgi rezultāti iegūti arī Francijā [Alabouvette, Parvier, 1992].

Kā antagonistus bieži izmanto baktērijas. Plaši pazīstamas *Pseudomonas*, īpaši *Pseudomonas fluorescens* antagonistiskās īpašības. Šīs baktērijas izolētas no dabiski supresīvām augsnēm. Galvenais priekšnoteikums efektīvai antagonistu darbībai - panākt, lai antagonists kolonizētu auga sakņu sistēmu. Baktēriju iedzīvošanos nosaka rizosfēras mikroflora, augs un tā sakņu izdalījumi un vides apstākļi. Ir vairākas hipotēzes par antagonisma mehānismu. Tiek uzskatīts, ka *Pseudomonas fluorescens* saista dzelzi, tādējādi atņemot to patogēniem [Yuen, 1985]. Iespējams, ka baktērijas spēj sadalīt fuzārijskābi, tādējādi degradējot patogēnu izdalītos metabolītus. Izteikta interesanta hipotēze,

ka *Pseudomonas fluorescens* spēj inducēt rezistenci, veidojot augiem toksiskus metabolītus, tādējādi aktivizējot augus (Keel, 1992).

Japāņu zinātnieki uzskata, ka perspektīvi dažādu fuzāriju antagonisti ir tie mikroorganismi, kas spēj sadalīt fuzārijskābi. Veiksmīgi izmantoti atsevišķi *Cladosporium werneckii* celmi un mutanti, kā arī nepatogēnie *Pseudomonas solanacearum* izolāti. Šo mutantu un izolātu ieguvei izmantota īpaša tehnika, kas ir patentēta [Ikoton, Adekunle, 1990].

Izolēti 35 *Pseudomonas fluorescens* un 3 *P. putida* un vēl 15 *Pseudomonas spp.* celmi, kas laboratorijas apstākļos efektīvi attiecībā pret dažādām *Fusarium* sugām, tai skaitā arī *F. oxysporum* (Chambel, Cantinho, Palmenha, 1992).

Viens no visbiežāk izmantotajiem antagonistiem ir *Bacillus subtilis*. Ļoti interesanti rezultāti iegūti Vācijā. Konstatēts, ka mākslīgi ievadīta šī baktērija spēj pilnīgi aizkavēt saslīmšanu pirmos četrus mēnešus, vēlāk pakāpeniski pieaug inficēšanās ar *Fusarium oxysporum*. Taču īpašu uzmanību jāpievērš faktam, ka būtisku ietekmi uz antagonistu efektivitāti atstāj antagonista deva, ja antagonista deva ir pārāk liela vai pārāk maza, tad atsevišķos gadījumos saslīmšana ar vīti nevis samazinājas, bet, tieši otrādi, pieauga [Freier, Krebs, 1990, Huber et al., 1987, Jacob, Krebs, 1986, Michael, Nelson, 1972].

Aktīvi *Bacillus subtilis* pētīts Vācijā. Īpaši aktīvs celms tiek ražots Biotehnoloģijas centrā. Lai ierobežotu neļķu fuzariālo vīti, antagonists lietots kopā ar kālija permanganātu. Labi rezultāti gūti, ja šo maisījumu ievada augsnē pirms spraudņu stādīšanas. Šķiet, ka kālija permanganāta klātbūtnē rodas labvēlīgāki apstākļi sakņu kolonizācijai (Obieglo, 1992).

Līdzīgus rezultātus iegūst arī Froļakina - ja *Bacillus subtilis* ievada augsnē, infekcija tiek nedaudz samazināta, efektīvāk, ja augu saknes apstrādātas ar baktēriju suspensiju. Tomēr arī šie rezultāti nebūt neatrisina problēmu, jo aizsargājošais efekts ir tikai divus mēnešus [Фролякина, 1990].

Atrasti vairāki *Actinomyces* celmi, kas ir ar izteiktu antagonistisku efektivitāti, kas ievērojami pārspēj plaši lietoto *Bacillus subtilis*. Krievijā pārbaudīti preparāti, kas veidoti uz *Streptomyces spp.* bāzes. Iegūts ievērojams efekts, ja apstrādātas augu saknes, taču, diemžēl, visai īslaicīgs [Котетигивили, Меладзе, 1986]. Līdzīgi rezultāti iegūti, ja izmanto preparātu, kas radīts uz *Pseudomonas spp.* bāzes (Froļakina, 1990).

Pēdējā laikā īpaša uzmanība pievērsta aktinomicētēm, daudzi šo sēņu celmi atzīti par efektīviem dažādu patogēnu antagonistiem. Vācijā patentēti vairāki *Streptomyces spp.* celmi, kam piemīt antagonistiskas īpašības attiecībā pret *Fusarium oxysporum var. dianthi*, kā arī citiem patogēniem - piem. *Phomopsis sp.*, *Botrytis cinerea* un *Phytophthora cryptogea*. Šis autoru kolektīvs veismīgi stādā arī ar *Bacillus subtilis* [Huber et al., 1987].

Daudz pētījumu par *Fusarium oxysporum* apkarošanu veikts Itālijā. Veiksmīgi izmantoti nepatogēnie *Fusarium spp.* celmi. Pārbaudītas dažādas

antagonistu inokulācijas metodikas, labākie rezultāti gūti, ja augu saknes pirms stādīšanas mērcē antagonistu suspensijā, bet veiksmīgi var izmantot arī augsnē iestrādātus graudus un pelavas, kas iepriekš inokulētas ar pārbaudāmo antagonistu. Sevišķu uzmanību izraisa veiksmīgā antagonistu pielietošana kopā ar augsnes ķīmisko apstrādi [Rumine, Parrini, 1982, Garibaldi, Gullino, 1986, Garibaldi et al., 1987].

Vītes ierobežošanai izmanto antibiotikas, ko producē sēnes un baktērijas. Bet šādu mikroorganismu sugu klāsts nav plašs, parasti izmanto *Aspergillus* un *Penicillium* ģinšu pārstāvjus, atsevišķos gadījumos arī *Trichoderma lignorum* [Войтук, 1986, Кузнецов и др., 1990, Ikoton, Adekunde, 1990].

Beikers iesaka integrētu neļķu fuzariālās vītes apkarošanas sistēmu, kuras stratēģiskais uzdevums- izturīgu neļķu klonu veidošana, tālāk augsnes dezinfekcija un sistēmisko fungicīdu pielietošana [Baker, 1987].

Kopsavilkums par literatūru

Pēdējos gadu desmitos neļķu vītes kļuvušas par ekonomiski nozīmīgākajām slimībām. Jau kopš gadsimta sākuma pazīstams neļķu vītes ierosinātājs *Phialophora cinerescens*. Tomēr pamatā pētīts *Fusarium oxysporum*, un *Phialophora cinerescens* netiek pievērsta vajadzīgā uzmanība, jo ražošanas apstākļos ierosinātāju grūti, reizēm pat neiespējami konstatēt.

Nekur literatūrā nav pietiekami precīzu ziņu par *Phialophora cinerescens* simptomiem, jo slimības izpausmes stipri atkarīgas no vides un šķirnes, turklāt *Phialophora cinerescens* bieži kombinējas ar citiem patogēniem, gan sakņu puves ierosinātājiem, gan *Fusarium oxysporum*.

Lai varētu izstrādāt bioloģiski pamatotu apkarošanas plānu, nepieciešams precizēt ziņas par *Phialophora cinerescens* bioloģiju un inficēšanās procesu.

Ļoti grūti iegūt veselu neļķu stādāmo materiālu, jo simptomi parādās ievērojami vēlāk, tādējādi nepieciešamas diagnostikas metodes, kas ļautu iespējami ātrāk konstatēt patogēna klātbūtni augos. Šādu metodes, kuras pamatā audu luminiscence ultravioletajā gaismā, piedāvā Bonifacio un Rumine. Literatūrā sastopamas arī citas ziņas par luminiscences pielietošanu slimību diagnostikā, protams, nepieciešams pārbaudīt šīs metodes precizitāti un piemērotību ražošanas apstākļiem.

Pēdējos gados īpaša uzmanība pievērsta antagonistu izmantošanai dažādu traheomikožu ierobežošanā. Tomēr visi izdalītie un pārbaudītie mikroorganismi attiecas uz *Fusarium oxysporum*, par *Phialophora cinerescens* antagonistu izmantošanas iespējām literatūrā praktiski ziņu nav, tādēļ šāda veida izmēģinājumi ļoti problemātiski, jo jāpārbauda ne tikai mikroorganismu aktivitāte un antagonistiskās īpašības, bet, galvenā problēma ir metodikas izstrādāšana šo pētījumu veikšanai.

2. METODIKA.

2.1. Izmēģinājumu mērķi un uzdevumi

Mūsu izmēģinājumu mērķis - noskaidrot *Phialophora cinerescens* izplatību Latvijā un pētīt tās bioloģiskās īpatnības.

Fialoforā vīte (ier. *Phialophora cinerescens* van Beyma, syn *Verticillium cinerescens*) literatūrā aprakstīta nepilnīgi, reizēm pretrunīgi. Ekonomiskas un bioloģiski pamatotas aizsardzības sistēmas izstrādāšanai nepieciešamas ziņas par patogēna bioloģiju un infekcijas procesa norisi. Veselīga stādāmā materiāla nodrošināšanā īpaša nozīme ekspresdiagnotikas metodēm, lai vīti konstatētu pirms simptomu parādīšanās. Neļķu vītes apkarošanā fungicīdi maz efektīvi. Pasaulē veikti plaši pētījumi bioloģisko augu aizsardzības līdzekļu pielietošanas iespēju noskaidrošanai. Daudzi izmēģinājumi apstiprina antagonistu efektivitāti attiecībā pret *Fusarium oxysporum*. Taču gandrīz nav pētījumu par *Phialophora cinerescens* antagonistiem un to izmantošanas iespējām.

Minēto jautājumu noskaidrošanai jāveic sekojoši uzdevumi:

1. konstatēt neļķu vītes izplatību Latvijā un identificēt tās ierosinātājus,
2. precizēt fialoforās vītes simptomus un *Phialophora cinerescens* morfoloģiskās īpatnības,
3. iespējamības robežās izpētīt *Phialophora cinerescens* bioloģiskās īpašības un infekcijas procesa norisi, kā arī patogēna saglabāšanās un pārvietošanās iespējas,
4. meklēt jaunas, līdz šim neizpētītas metodes fialoforās vītes diagnosticēšanā un ierobežošanā.

2.2. Izmēģinājumu vieta

Neļķu vītes izplatība un tās ierosinātāju sugu sastāvs pētīts visā Latvijas teritorijā.

Izmēģinājumi veikti Augu un kukaiņu vīrus slimību problēmu laboratorijās un siltumnīcās.

Siltumnīcās neļķes audzētas no spraudņiem, kas apsaknoti Ogrē, uzņēmumā "Meristēmu kultūras". Neļķes stādītas neitralizētā un bagātinātā kūdrā, visi kopšanas darbi (laistīšana, papildmēslošana, uzsiešana, ziedpumpuru izlaušana) veikti atbilstoši parastajām neļķu audzēšanas tehnoloģijām. Apstākļi siltumnīcās (temperatūra, apgaismojums, barošanās režīms) visumā atbilda neļķu augšanas prasībām [Garaisils, 1981].

Darbs veikts sadarbībā ar uzņēmumu "Meristēmu kultūras", toreizējo Ļeņingradas Vissavienības Augu Aizsardzības Institutu un Latvijas ZA Mikrobioloģijas institūtu.

2.3. Vītes izplatības un tās ierosinātāju sugu sastāva noteikšana.

1987. un 1988. gadā apsekotas 15 lielākās siltumnīcas, kur neļķes tiek audzētas relatīvi lielās platībās pēc industriālām tehnoloģijām.

Vītes izplatības noteikšanai izmantotas modificētas standartmetodikas (Кулибаба, 1974, Ведерников, 1986.).

Apsekota visa neļķu stādījumu platība. Vītes perēkļu un tukšo laukumu, (kur novītušie augi jau izvākti), platība izmērīta un aprēķināts novītušo neļķu skaits, ņemot vērā augu daudzumu uz vienu m². Iegūtajam daudzumam pieskaitītas neļķes ar vizuāliem vītes simptomiem un aprēķināts vītes izplatības procents. Vītes izplatība atsevišķi rēķināta jaunajos stādījumos (līdz 6 mēnešiem), 6...12 vecos un par gadu vecākos stādījumos.

Vītes ierosinātāju precīzai diagnostikai nepieciešama slimību ierosinātāju izolācija tīrkultūrā. No katras siltumnīcas nejauši izvēlēti 20 augi ar vītes pazīmēm, un no katra auga ņemti 5 griezumi: pirmais sakņu kakliņa rajonā, nākamie attiecīgi turpmākajos lapu mezglos. Sēnes izolētas pēc nedaudz modificētas Hohrjakova standartmetodikas, kas precizēta Ogrē, "Meristēmu kultūrās" [Хохряков, 1978, Калниня, 1983]. Audu gabaliņi mazgāti tekošā ūdenī, dezinficēti 96° spirtā un piecas reizes skaloti sterilā, destilētā ūdenī. Patogēna izolācijai izmantota Čapeka barotne. Trīs nedēļas pēc uzsēšanas sēnes identificētas pēc koloniju krāsas, konīdijnesēju un konīdiju formas.

2.4. *Phialophora cinerescens* morfoloģisko īpatnību, vītes simptomu un bioloģijas pētīšana

2.4.1. Patogēnu tīrkultūru iegūšana un neļķu inokulācijas metodes.

Lai konstatētu un precizētu fialoforās un fuzariālās vītes simptomus, neļķes mākslīgi inokulētas ar *Phialophora cinerescens* un *Fusarium oxysporum* tīrkultūrām.

Tīrkultūras iegūtas, izolējot slimību ierosinātājus no dabiski inficētiem, slimiem augiem uzņēmumā "Meristēmu kultūras". Slimību ierosinātāji identificēti Sankt-Pēterburgā, toreizējā Vissavienības Augu Aizsardzības Institutā V.Potlaičukas vadībā un savairoti uz standartizētām Čapeka barotnēm.

Visā izmēģinājumu gaitā bija nepieciešams *Phialophora cinerescens* micēlijs un konīdiju suspensija paredzēto eksperimentu veikšanai. Sēne

savairošanai pārsēta tikai vienu reizi, turpmāk atkal no jauna inokulētas neļķes un patogēns reizolēts tīrkultūrā. Vairākkārtēja sēnes pārsēšana netika pieļauta, lai patogēns nezaudētu agresivitāti.

Izmēģinājumos nepieciešamā inokulācija parasti veikta, izmantojot sekojošu metodiku: neļķu sakņu kakliņš ievainots ar sterilu skalpeli un rētā iepilināta 0,5 ml *Phialophora cinerescens* konīdiju suspensija (koncentrācija: 10000 konīdijas 1 ml ūdens). Vītes simptomi un slimības intensitāte vērtēti ik pēc septiņām dienām.

2.4.2. Neļķu vītes intensitātes noteikšana

Pētījumos par *Phialophora cinerescens* bioloģiskajām īpatnībām, inkubācijas periodu un slimības simptomiem, kā arī vērtējot pārbaudāmo antagonistu efektivitāti, veģetācijas izmēģinājumos galvenais rādītājs- slimības intensitāte.

Darba gaitā izstrādāta piecu baļļu skala vītes intensitātes noteikšanai:

- 0- augs vizuāli vesels, vītes simptomi nav novērojami,
- 1- turgoru zaudējušas atsevišķas lapas, to krāsa pelēcīgi zaļa,
- 2- viens vai divi dzinumi novītuši, pārējie bez vītes pazīmēm vai novītušas atsevišķas lapas,
- 3- gandrīz viss augs novītis, vairums lapu dzeltenas, normāla izskata tikai atsevišķi dzinumi vai to daļas,
- 4- augs pilnīgi sakaltis.

2.4.3. *Phialophora cinerescens* koloniju morfoloģisko pazīmju un mikroskopiskās uzbūves noteikšana

Phialophora cinerescens koloniju morfoloģijas un to augšanas īpatnību novērtēšanai izmantotas sekojošas barotnes; 1) Čapeka barotne (standarts), 2) Čapeka barotne, izslēdzot slāpekli un cukuru, 3) Čapeka barotne, kurā nātrijs nitrāts aizstāts ar amonija nitrātu, 4) Čapeka barotne, kurā glikoze aizstāta ar maltozi, 5) Čapeka barotne, izslēdzot cukuru, 6) Čapeka barotne, izslēdzot slāpekli, 7) neļķu-agara barotne, 8) neļķu-agara un glikozes barotne. Barotnes sterilizētas, salietas Petri traukos un uzsēta sēnes tīrkultūra. Koloniju pigmentācija, micēlija struktūra un sēnes augšanas intensitāte noteikta ik pēc piecām dienām. Sporulācijas intensitāte noteikta pēc konīdiju daudzuma kolonijā. Šim nolūkam izgriezti 1 cm² barotnes gabaliņi, noskaloti ar destilētu ūdeni, iegūtajā suspensijā uzskaitītas konīdijas, izmantojot Gorjujeva kameru.

Izmēģinājumi veikti, izmantojot standartmetodikas [Потлайчук, 1971, Билай, 1971, 1978, Чумаков, 1974], ievērojot sterilitāti un tie iekārtoti desmit atkārtojumos.

Phialophora cinerescens micēlija, konīdijnesēju un konīdiju mikroskopiskās uzbūves īpatnības pētītas un fotografētas gaismas un skanējošā mikroskopā pēc standartmetodikām.

Phialophora cinerescens attīstība inficētajos neļķu vadaudos noteikta skanējošā mikroskopā. Skanējošais mikroskops tiek aizvien plašāk pielietots sēņu uzbūves un infekcijas procesa pētījumos [Feden, O'Brien, 1968, Kazuho, 1986, Palade, 1952, Крупская, Сухоруков, 1989]. Tomēr *Phialophora cinerescens* līdz šim skanējošā mikroskopā nebija novērota.

Izmēģinājumiem gatavoti preparāti no mākslīgi inokulēto neļķu stublāju gabaliņiem. Griezti 0.5 cm biezi stublāja šķērsriezumi gan ar redzamām vītes pazīmēm (nobrūnējuši vadaudi), gan bez vizuāliem slimības simptomiem. Pirms preparātu gatavošanas daļa no griezumiem 3 diennaktis turēti mitrajā kamerā, lai panāktu sēnes intensīvu attīstību uz stublāja šķērsriezuma virsmas.

Phialophora cinerescens preparāti skanējošam mikroskopam gatavoti un mikroskopā novēroti Dr. biol. E. Putnaērgļa vadībā.

Konīdiju dīgšana un dīgļstobra veidošanās, kā arī dīgļstobra garums noteikts gaismas mikroskopā (400 reižu palielinājumā) ik pēc 24 stundām. Konīdiju dīgšanas novērošanai sporu suspensija (1000 konīdijas 1 ml ūdens) uzpilināta priekšmetstikliņam un novietota mitrajā kamerā istabas temperatūrā.

2.4.4. *Phialophora cinerescens* bioloģisko īpašību pētīšana.

Noteikta *Phialophora cinerescens* iedzīvošanās un darbības spēja dažādos neļķu dzimtas augos un jaunākajās, plašāk audzētajās remontantneļķu šķirnēs.

Sugu specializācijas noteikšanai izvēlēti augi, kas plaši tiek audzēti siltumnīcās un kam raksturīgas vadaudu traheomikozes (tomāti, gurķi, acālijas), kā arī augi, kas pieder *Dianthaceae* dzimtai- *Dianthus plumaris*, *D. barbatus*, *D. caryophyllus* un *Gypsophila spp.*

Katras sugas desmit augi inokulēti ar *Phialophora cinerescens* tūrkultūru pēc iepriekš aprakstītās metodikas un novērota simptomu parādīšanās.

Šķirņu izturība vērtēta, neļķes inokulējot ar *Phialophora cinerescens* tūrkultūru. Izvēlētas septiņas plašāk audzētas remontantneļķu šķirnes, t.sk. izturīgas pret *Fusarium oxysporum*- White Sim, Red Sim, Lena, Dark Lena, Nora, Carnaval, Jaguar.

Lai noskaidrotu infekcijas iekļūšanas ceļus un veidus, kā arī konstatētu inkubācijas periodu, neļķes inokulētas, izmantojot dažādas metodes. Inokulācijai izmantota konīdiju suspensija (10000 kon. 1ml ūdens) un micēlijs.

Neļķes inokulētas sakņu kakliņā, stublājā un laistīta augsne. Neļķes iepriekš ievainotas vai arī inokulētas neievainotas neļķes. Kontroles variantos inokuluma vietā izmantots destilētais ūdens. Izmēģinājumā astoņi varianti; 1) neļķu sakņu kakliņš ievainots un uzlieti 0,5 ml konīdiju suspensijas, 2) sakņu kakliņš neievainots un uzlieti 0,5 ml konīdiju suspensijas, 3) sakņu kakliņš ievainots un uzlikts sēnes micēlijs, 4) sakņu kakliņš neievainots un uzlikts micēlijs, 5) stublājs ievainots un uzpilināti 0,5 ml konīdiju suspensijas, 6) neievainotam stublājam uzpilināti 0,5 ml konīdiju suspensijas, 7) stublājs ievainots un uzlikts sēnes micēlijs, 8) neievainotam stublājam uzlikts micēlijs. Izmēģinājums iekārtots piecos atkārtojumos.

Labvēlīgu inficēšanās apstākļu nodrošināšanai, inokulētie stublāji aptīti ar mitru vati vai arī podiņi pārsieti ar polietilēna plēvi (sk. 2.1. att.).



2.1. att. Neļķu inokulācija ar traheomikožu ierosinātājiem: pa kreisi- inokulēts neļķes stublājs, pa labi- inokulēts neļķes sakņu kakliņš.

Phialophora cinerescens pārvietošanās iespēju no slimajiem uz veselajiem augiem, kā arī patogēna saglabāšanās iespējas pārbaudīja: 1) apsakņotus neļķu spraudņus iestādot sterilizētā kūdrā, kas sajaukta ar novītušu augu atliekām, 2) neļķes iestādītas kūdrā, kur iepriekš augušanas inficētas neļķes (substrāts izsijāts, lai atbrīvotos no augu atliekām). Izmēģinājums iekārtots trijos atkārtojumos.

Patogēna izplatīšanās iespējas no viena auga uz otru pētītas, veselu stādu vidū iestādot vienu iepriekš inficētu neļķi. Izmēģinājums iekārtots trijos variantos un trijos atkārtojumos. Varianti: 1) apsakņots spraudenis inficēts, mērcējot to konīdiju suspensijā, 2) ievainots neļķes stāds mērcēts konīdiju suspensijā, 3) pēc iestādīšanās un pilnīgas ieaugšanas spraudenis inokulēts stublājā. Katrā atkārtojumā vērtēti 25 augi, kas izstādīti attālumā 25 x 25 cm.

2.5. Fialoforās vītes diagnostika, izmantojot luminiscences mikroskopu.

Vītes diagnosticēšanai izmantotas ar *Phialophora cinerescens* inokulētas neļķes. Katru nedēļu nogriezti pieci augi un pārbaudīti ar bioloģisko metodi (patogēna reizolācija tīrkultūrā) un ar luminiscences mikroskopu.

Analizēti stublāju gabaliņi, kas ņemti mezglu vietās, sākot ar sakņu kakliņu un līdz piektajam lapu pārim. Katrs gabaliņš sadalīts divās daļās, no kurām viena novietota uz barotnes, bet otra sagatavota darbam ar luminiscences mikroskopu.

Neļķu fialoforās vītes noteikšanai agrā attīstības stadijā itāliešu zinātnieki Bonifacio un Rumine izmantojuši luminiscences mikroskopu. Viņu lietotā metodika ir salīdzinoši sarežģīta, jo nepieciešami ultraplānie griezumī, kas prasa komlicētu neļķu stublāju gabaliņu fiksāciju [Bonifacio, Rumine, 1984]. Turklāt šī metode ir darbietilpīga. Analizējot literatūras datus, mēs secinājām, ka ultraplāno griezumī izmantošana nav mērķtiecīga, jo luminiscē nevis *Phialophora cinerescens* propagulas, bet vielas, kas rodas patogēna darbības rezultātā.

Mēs pielietojām vienkāršotu metodi, kas varētu būt piemērota praktiskai lietošanai: sērijveidā pārbaudot lielu paraugu daudzumu.

Analizējamie neļķu stublāju gabaliņi uz 15 minūtēm ievietoti fiksatorā (izmantots Karnau šķīdums), pēc tam 96° spirtā, kur paraugi uzglabāti līdz mikroskopēšanai.

No katra gabaliņa iegūti pieci plāni griezumī, kas ievietoti destilētā ūdenī uz priekšmetstikliņa un apsegti ar segstikliņu. Preparāti skatīti luminiscējošā mikroskopā MJ1-2 ultravioletā gaismā, (viļņu garums 340-360 nm), izmantojot gaismas filtrus ΦC 1-2 un C3C 14-4. Filtri izvēlēti pārbaudes un salīdzināšanas ceļā.

Katrā pārbaudes reizē mikroskopā apskatīti 125 preparāti un uz barotnēm novietoti 5 paraugi.

Papildus no fiksētajiem audu gabaliņiem veikti griezumī, kas krāsoti ar sekojošām fluorescējošām krāsvielām (katra krāsa lietota atsevišķi): akredīn dzelteni, akredīn oranžo, auramīnu, kongo sarkano, korifosfīnu, neitrālo sarkano pironīnu Ž, primulīnu, rodamīnu 6Ž, tripoflavīnu un eritrozīnu (koncentrācijā 1:100000). Pēc krāsošanas preparāti vairākkārt skaloti destilētā ūdenī, pēc tam skatīti luminiscējošā mikroskopā.

2.6. Iespējamo *Phialophora cinerescens* antagonistu pārbaude

Potenciālie *Phialophora cinerescens* antagonisti izdalīti no dabiskām, trūdvielām bagātām augsnēm, vairumā gadījumu no lapu koku mežu augsnēm. Šie antagonisti pieder dažādām mikroorganismu grupām. Antagonistu izdalīšana un pirmā pārbaude veikta Latvijas ZA Mikrobioloģijas institūtā, Daces Pavlovičas vadībā. Mikroorganismu antagonistiskās īpašības noteiktas audzējot tos uz mākslīgajām barotnēm kopā ar *Phialophora cinerescens*. Aktīvākie no tiem nodoti tālākai pārbaudei Augu un kukaiņu vīrusslimību problēmu laboratorijā. Precīzi sugu un ģinšu nosaukumi netiek minēti, jo institūta līdzstrādnieki vēlas tos saglabāt noslēpumā iespējamai patenta iegūšanai.

Mūsu uzdevums bija izstrādāt metodiku antagonistu efektivitātes pārbaudei siltumnīcās un iespēju robežās atlasīt efektīvākos, potenciāli izmantojamos *Phialophora cinerescens* antagonistus turpmākai pārbaudei un praktiskai izmantošanai.

Pirmajā izmēģinājumu sērijā pārbaudītas 5 baktērijas, 2 aktinomicētes un 2 *Trichoderma lignorum* celmi. Izmēģinājumā iekārtoti 27 varianti, kas sadalīti trijās variantu grupās, atkarībā no antagonistu ievadīšanas laika: 1) augsnē, kur jau aug neļķes ievadīti antagonisti un pēc 3-12 dienām (atkarībā no katra antagonista augšanas un vairošanās ātruma) ievadīts patogēns, 2) augu augšanas laikā ievadīta augsnē *Phialophora cinerescens* un pēc nedēļas antagonisti, 3) augsnē vienlaicīgi ievadīti antagonisti un patogēns, pēc 3-12 dienām stādīti apsākoti neļķu spraudēņi. Eksperimenti veikti piecos atkārtojumos. Inokulācijai ar *Phialophora cinerescens* izmantota konīdiju suspensija, koncentrācijā 1 miljons konīdiju 1 ml, uz katru augu paredzēti 10 ml suspensijas. Antagonisti ievadīti devās, kas aprēķinātas Mikrobioloģijas institūtā.

Pēc novērojumu beigām, izmantojot iegūtos datus, iekārtoti atkārtoti izmēģinājumi. Izvēlēti efektīvākie antagonisti no iepriekš pārbaudītajiem un papildus iekļauta vēl viena baktērija. Pavisam šajā sērijā pārbaudītas 5 baktērijas, aktinomicēte un 2 antagonistu kompleksi. Šoreiz patogēna deva samazināta divas reizes. Antagonisti ievadīti dažādos termiņos- 1) augsnē

ievadīta *Phialophora cinerescens*, pēc tam antagonisti, 2) patogēns un antagonisti ievadīti reizē, 3) vispirms augsnē ievadīti antagonisti, pēc tam patogēns. Visos gadījumos neļķes stādītas pēc augsnes inokulācijas ar patogēnu un antagonistiem.

Dažus mēnešus vēlāk iekārtots izmēģinājums pēc iepriekšējās shēmas, taču kā antagonistu izmantoja tikai vienu aktinomicēti, kas izdalīta Mikrobioloģijas institūtā un laboratorijas apstākļos novērtēta kā izcili antagonistiska attiecībā pret *Phialophora cinerescens*.

Visos izmēģinājumos antagonistu efektivitāti novērtēja pēc neļķu filoforās vītes vizuālo simptomu attīstības, izmantojot iepriekš aprakstīto skalu.

Svarīgākie dati matemātiski apstrādāti, izmantojot datoru un programmu Excel 4.0 Anova-test.

3. REZULTĀTI

3.1. Neļķu vītes izplatība Latvijā

Visā pasaulē neļķes, neskatoties uz daudzu jaunu, eksotisku ziedu ienākšanu mūsu ikdienā, vēl aizvien ir vienas no plašāk audzētajām puķēm griezto ziedu ieguvei. Astoņdesmitajos gados Latvijā no visām zemstiklu platībām, kas atvēlētas ziedu ražošanai, 25 % aizņēma remontantneļķes.

Tomēr pēdējos gadu desmitos, sakarā ar neļķu platību palielināšanos un industriālo tehnoloģiju ieviešanu, strauji pieaugusi neļķu slimību izplatība un bīstamība. Vislielākos ekonomiskos zaudējumus rada vītes (Garold, 1969, Fletcher, 1972, Beckman, 1983). Šīs slimības rezultātā augi aiziet bojā un nākas priekšlaicīgi atjaunot stādījumus. Neļķu vīte sastopama arī Latvijā, tās izplatība strauji pieaugusi tieši pēdējos piecpadsmit gados. Tomēr, daudz maz sistemātiski pētījumi par šīs slimības sastopamību un bīstamību mūsu valstī nekad nav veikti.

Lai gūtu priekšstatu par minēto slimību izplatību mūsu valstī 1989-1990 gadā apsekotas visas Latvijas siltumnīcas, kur neļķes audzētas salīdzinoši lielās platībās (neļķu stādījumu platība lielāka par 200 m²). Pavisam apsekoti 15 siltumnīcu kompleksi, kuros kopējā neļķu stādījumu platība 27800 m².

Vīte konstatēta absolūti visās apsekotajās siltumnīcās, lai gan tās izplatība, protams, ļoti dažāda. Inficētības procents stipri variē atkarībā no stādījumu vecuma. Stādījumi, kas jaunāki par sešiem mēnešiem, no kopējās neļķu platības aizņem apmēram 25 %. Šajā stādījumu grupā ar traheomikozēm un sakņu puvēm vidēji inficēti 7 % augu (sk. 3.1. tab.). Taču, dažādās siltumnīcās situācija ir ļoti atšķirīga, inficētības pakāpe variē no 0...20 %. Šajā stādījumu grupā vītes simptomi netika konstatēti tikai Ventspilī, Daugavpilī un Valmierā. Visbiežāk siltumnīcās novērojami atsevišķi augi ar vītes pazīmēm vai arī nelieli vītes perēkļi. Atsevišķos gadījumos augu mājā (platība 500 m²) ar vīti inficēti 20% neļķu, un tas nozīmē, ka jau pēc dažiem mēnešiem nāksies šos stādījumus likvidēt, lai gan neļķes vēl nav sākušas pa īstam ražot.

Vislielākās platības (52%) aizņem neļķes vecumā no 6-12 mēnešiem. Šajā, vislielākās produktivitātes periodā vītes simptomi novēroti visās augu mājās, tikai dažos gadījumos inficēto augu skaits nepārsniedz 20 %. Vairumā gadījumu vītes simptomi skaidri saskatāmi vismaz pusei augu, stādījumos lieli, tukši laukumi, kur novītušās neļķes jau izvāktas. Sastopamas siltumnīcas, kur nav atrodams neviens vismaz ārēji vesels augs. Vidēji inficēti 42% augi.

Tikai 23 % no neļķu koplaiības aizņem stādījumi, kas vecāki par vienu gadu. Parasti šie stādījumi jau likvidēti neļķu vītes postījumu dēļ. Atlikušajās platībās inficēti 52 % neļķu, turklāt vītes intensitāte ļoti augsta, augi novītuši, daļa no dzinumiem pilnīgi nokaltuši, raža tikpat kā netiek iegūta.

3.1. tabula

Neļķu vītes izplatība Latvijā

Saimniecība	Kopējā neļķu platība, m ²	Stādījumi, kas jaunāki par 6 mēnešiem			Stādījumi 6-12 mēnešu vecumā			Stādījumi, kas vecāki par vienu gadu		
		kopējā platība, m ²	platība, ko aizņem inficētie augi		kopējā platība, m ²	platība, ko aizņem inficētie augi		kopējā platība, m ²	platība, ko aizņem inficētie augi	
			m ²	%		m ²	%		m ²	%
Tukuma ZPD	600	300	15	5	300	120	40	-	-	-
Liepājas zieds	1600	400	20	5	1200	240	20	-	-	-
Ventspils zieds	2400	400	0	0	1200	60	5	800	80	10
Talsu dārzniecība	2000	1000	100	10	1000	800	80	-	-	-
Daugavpils zieds	4000	1000	0	0	2000	400	20	1000	400	40
Rēzekne	600	300	30	10	300	300	100	-	-	-
Jēkabpils zieds	1800	600	30	5	600	240	40	600	600	100
Dobele, Auri	400	-	-	-	200	40	20	200	200	100
Kuldīgas dārzniecība	2000	1000	125	25	1000	300	30			
Jelgavas zieds	4000	1000	50	5	2000	1000	50	1000	800	80
Madona	300	-	-	-	300	30	10	-	-	-
Valmiera	600	300	0	0	300	90	30	-	-	-
Cēsu zieds	3000	600	120	20	1800	720	40	600	-	60
Rīgas zieds	4000	1000	100	20	3000	1200	40	-	360	-
Rīga, Ezerciems	500	-	-	-	500	150	30	-	-	-
Kopā	27800	7900	590	7	15700	6690	42	4200	2440	58

Tādējādi pilnīgi visās siltumnīcās novērojama intensīva vītes izplatība, vidēji 32% augu inficēti. Patiesībā inficētības procents noteikti ir vēl augstāks, jo uzskaitīti augi ar vizuālām vītes pazīmēm. Vītes izplatība nekādi nav saistīta ar siltumnīcu ģeogrāfisko izvietojumu, situācija visai līdzīga visā Latvijas teritorijā.

Vītes bīstamība lielā mērā atkarīga no neļķu inficēšanās laika, jo agrākā attīstības stadijā tās inficējas, jo lielāki ekonomiskie zaudējumi. Ventspilī jaunajos neļķu stādījumos vītes simptomi netika novēroti, un arī visvecākajās platībās inficētības procents nepārsniedz 10 %. Turpretim "Rīgas ziedā" inficēti 20 % jauno stādījumu, gada vecumā inficēti jau 40 % neļķu un nākas šos stādījumus likvidēt.

Fletčers (Fletcher, 1972) uzskata, ka pēc slimības perēkļu izvietojuma var spriest par patogēna bioloģijas atsevišķiem aspektiem. Apsekotajās siltumnīcās vītes perēkļi praktiski vienmēr izvietoti vairāk vai mazāk vienmērīgi pa visu stādījumu platību, tie nav saistīti ar atrašanos durvju vai konstrukciju tuvumā. Var pieņemt, ka šāds slimības perēkļu izvietojums liecina par patogēna saglabāšanos augsnē vai arī visticamāk - slimība tiek pārnēsāta ar dēstiem. Lai precīzi konstatētu iemeslus, kādēļ vītes intensitāte dažādās siltumnīcās ir atšķirīga, nepieciešami pētījumi.

Iegūtie rezultāti apstiprina faktu, ka mūsu valstī neļķu vīte ir ļoti plaši izplatīta un nodara ievērojamus ekonomiskos zaudējumus.

3.2. Vītes ierosinātāju sugu sastāvs Latvijā

Neļķu vītes pazīmes var rasties nelabvēlīgu augšanas apstākļu (nepietiekams mitrums, nepiemērota temperatūra) rezultātā, tomēr visbiežāk to ierosina patogēnie mikroorganismi. Fakultatīvie saprofiti, piemēram, *Cladosporium spp.*, *Alternaria dianthi*, *Fusarium spp.* izraisa sakņu puves, kuru ārējie simptomi ļoti līdzīgi vītei. Optimālos audzēšanas apstākļos (sabalansēts mēslojums, nesabiezīnāti stādījumi) šīs slimības nav bīstamas. Mazāk atkarīgas no vides un daudz grūtāk ierobežojamas ir tipiskās traheomikozes, ko ierosina *Fusarium oxysporum* un *Phialophora cinerescens*.

Gandrīz visu laiku par galveno neļķu vītes ierosinātāju uzskatīts *Fusarium oxysporum*, un praktiski visu zinātnieku, kas nodarbojas ar traheomikozēm, uzmanība veltīta tieši šim patogēnam.

Tomēr mūsu gadsimta trīsdesmitajos gados vispirms Francijā, tad arī Amerikā un Itālijā konstatēja, ka arvien biežāk neļķu vīti ierosina *Phialophora cinerescens* (Moreau, 1969, Garibaldi, 1969). Astoņdesmito gadu sākumā *Phialophora cinerescens* atklāja arī Krievijā (Салов, 1980, Савельева, 1975). Drīz pēc tam šo patogēnu V. Potlaičuka identificēja arī Ogrē (nepublicēti dati), uzņēmumā "Meristēmu kultūras". Ogres speciālisti šo patogēnu atrada arī citur

republikā. Tomēr Latvijā *Phialophora cinerescens* vēl aizvien skaitās karantēnas objekts, tiek uzskatīts, ka tā praktiski nav sastopama un mūsu valsts puķkopji tradicionāli runā par neļķu fuzariālo vīti. Šo uzskatu veicina apstākļi, ka ražošanas apstākļos vizuāli ļoti grūti šos patogēnus identificēt. Taču šo sēņu bioloģija un ekoloģiskās prasības ir atšķirīgas, tātad arī ierobežošanas sistēmām jābūt atšķirīgām.

Lai noskaidrotu reāli esošo situāciju, no apsekotajām siltumnīcām ievākti augi ar vītes pazīmēm precīzai slimības ierosinātāja identificēšanai. Pavisam analizēti 2560 augu ar vizuālajiem vītes simptomiem, uz barotnēm uzlikti 12800 paraugi.

Apmēram trešajā daļā paraugu izolēti saprofīti, kas ierosina sakņu puves- *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum*, *Alternaria dianthi*, *Cladosporium herbarum* (sk. 3.2. tab.).

3.2. tabula

Neļķu vītes un sakņu puves ierosinātāju sastāvs ražojošos neļķu stādījumos
Latvijā (%)

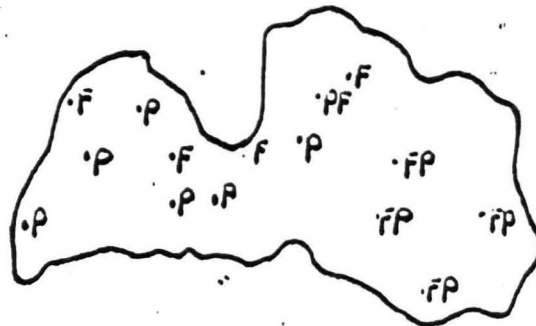
Saimniecība	Ierosinātāji			
	<i>Phialophora cinerescens</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium sp.</i>	Pārējie saprofīti
Tukuma ZPD	86	0	5	9
Liepājas zieds	67	11	12	10
Ventspils zieds	0	43	7	50
Talsi	67	2	4	17
Rēzekne	20	78	0	2
Daugavpils zieds	29	20	49	2
Jēkabpils zieds	20	58	0	2
Dobeles raj, Auri	96	0	2	2
Kuldīgas raj.	0	75	5	20
Jelgavas zieds	48	7	7	28
Madona	39	42	5	14
Valmiera	0	25	36	39
Cēsu zieds	68	14	0	18
Rīgas zieds	0	73	27	0
Ezerciems	96	0	0	4
Vidēji	45	29	12	14

Tomēr divas trešdaļas augu inficētas ar tipiskajiem traheomikožu ierosinātājiem- *Fusarium oxysporum* un *Phialophora cinerescens*. Iespējams, ka

reāli tipisko traheomikožu īpatsvars ir vēl lielāks, jo daudzos gadījumos saprofīti ir sekundārie patogēni, kas ieviešas jau patogēna bojātā sakņu kakliņā. Šādā gadījumā uz mākslīgajām barotnēm grūti vai pat neiespējami konstatēt traheomikožu ierosinātājus (īpaši tas attiecas uz *Phialophora cinerescens*), jo saprofīti uz barotnēm viegli pāraug tipiskos parazītus.

Mūsu valstī visbiežāk sastopama tieši *Phialophora cinerescens* (42%), *Fusarium oxysporum* tikai 29 % gadījumu.

Atsevišķos gadījumos konkrētā siltumnīcu kombinātā sastopams tikai viens no traheomikožu ierosinātājiem (piemēram - Ventspilī, Rīgā, Tukumā tikai *Phialophora cinerescens*, bet Kuldīgā un Rēzeknē - *Fusarium oxysporum*), bet, vairumā gadījumu vienlaicīgi atrodami abi patogēni (sk. 3.1. att.). Šis apstāklis vēl vairāk sarežģī vītes ierosinātāja identifikāciju ražošanas apstākļos un tādējādi apgrūtina šīs slimības ierobežošanu.



3.1. att. Vītes izplatība un tās ierosinātāji Latvijā: P - identificēta *Phialophora cinerescens*, F - identificēta *Fusarium oxysporum*

Pēdējos piecos gados ekonomiskā situācija ir mainījusies, un neļķu platības ievērojami samazinājušās. Tomēr arī pašlaik visur, kur neļķes vēl tiek audzētas (Rīgā, Bulduros, Jelgavā un citur) problēmas sagādā vīte, un galvenokārt to ierosina *Phialophora cinerescens*.

Phialophora cinerescens un *Fusarium oxysporum* bioloģiskās īpatnības un ekoloģiskās prasības ir atšķirīgas, tādēļ bioloģiski pamatotai, efektīvai ierobežošanas pasākumu sistēmas izstrādāšanai nepieciešama patogēna precīza identifikācija. Veiktie novērojumi pierāda, ka mūsu valstī neļķu vīti galvenokārt izraisa *Phialophora cinerescens*. Šis patogēns salīdzinoši maz pētīts pasaulē un nemaz mūsu republikā. Tādēļ nepieciešami izmēģinājumi par fialoforās vītes

simptomiem, patogēna morfoloģiju, bioloģiju, infekcijas procesa norisi un slimības ierobežošanas iespējām.

3.3. Neļķu fialoforās vītes diagnostika

Jebkuras slimības diagnostikā izšķir trīs secīgus posmus: 1) slimības simptomu vizuāla novērtēšana, 2) slimības ierosinātāja izolācija tīrkultūrā, 3) sēnes koloniju krāsas un struktūras noteikšana un patogēna mikroskopiskās uzbūves pētīšana.

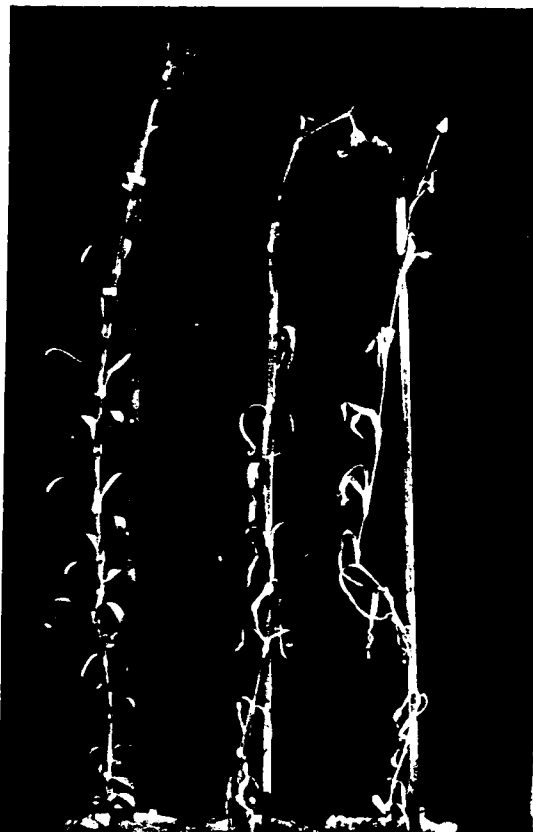
3.3.1. Neļķu fialoforās un fuzariālās vītes simptomi

Pirmo reizi neļķu fialoforo vīti aprakstīja Wickens mūsu gadsimta sākumā, lai gan nepareizi noteica tās ierosinātāju, pieskaitot to *Verticillium* ģintij un nosaucot *Verticillium cinerescens*. Pēc tam šīs slimības simptomus aprakstījuši Salovs un citi (Garibaldi, 1984, Салов, 1986). Tomēr dati par fialoforās vītes simptomiem diezgan pretrunīgi. Vide dažādi ietekmē *Phialophora cinerescens* attīstību un, tāpat, arī slimības simptomus. Slimības pazīmes variē atkarībā no šķirnes un katras neļķes individuālajām īpatnībām, tāpat citu mikroorganismu klātbūtnes. Turklāt dabā neļķes bieži vienlaicīgi vai gandrīz vienlaicīgi inficētas ar dažādiem patogēniem (to apstiprina arī mūsu pētījumi, sk. 3.2. nod.), tādēļ salīdzinoši grūti konstatēt *Phialophora cinerescens* simptomus.

Lai precīzi izpētītu fialoforās un fuzariālās vītes simptomus un to attīstību Latvijas apstākļos, neļķes inokulētas ar *Phialophora cinerescens* un *Fusarium oxysporum* tīrkultūrām.

Pirmās fialoforās vītes pazīmes novērotas piecas nedēļas pēc inokulācijas. Literatūrā tiek uzskatīts, ka višana vienmēr sākas no apakšējām lapām, bet īstenībā, ja slimības ierosinātājs ir *Phialophora cinerescens*, pirmās turgoru zaudējušās lapas var novērot jebkurā auga daļā. Sākumā slimības simptomi novērojami tikai uz viena dzinuma, bet biežāk tikai vienā dzinuma pusē. Lapas kļūst nedaudz pelēcīgas, zaudē turgoru, jāatzīmē, ka krāsas maiņa ir tik tikko manāma. Literatūrā bieži pieminētā sarkanā nokrāsa uz lapām praktiski nav pamanāma. Višana var sākties kā augšējos, tā arī apakšējos lapu mezgļos, reizēm novīst tikai viena lapas puse - līdz vidējai dzīslai. Pamazām višana izplatās gan uz augšu, gan uz leju, pārejot uz pārējiem dzinumiem (sk. 3.2. att.).

Šajā laikā stublāja griezumā novērojama vadaudu brūnēšana, sākumā ir tikai atsevišķi brūni punkti, vēlāk nobrūnē viss vadaudu gredzens. Tomēr vispirms vīst lapas un vadaudu nekroze attīstās tikai pēc tam.



3.2. att. *Phialophora cinerescens* simptomi: 1) vesels augs, 2) pirmās vītes pazīmes - atsevišķas lapas zaudējušas turgoru, 3) patogēna darbības rezultātā neļķe nokaltusi.

Pamazām lapas kļūst salmu dzeltenas, nedaudz iesārtā tonī. Lapas sāk čokuroties un pamazām pilnīgi sakalst. Uz neļķu stublājiem reizēm violeti plankumi, kas vēlāk dzeltē, bieži stublāji dziļi sprēgā. Pumpuri neveidojas, vai arī neuzplaukst. Tomēr šīs pazīmes novērojamas tikai slimības attīstības pēdējā posmā, kad augi praktiski aizgājuši bojā, gandrīz sakaltuši. Saknes nav bojātas.

Phialophora cinerescens vertikāli izplatās daudz straujāk nekā horizontāli, tā ir tipiska fialoforās vītes pazīme, bieži vien atsevišķi dzinumi pilnīgi sakaltuši, bet uz pārējiem nav nekādu vītes pazīmju. Patogēna straujo izplatīšanos vertikālā virzienā Madaleine Perrese izskaidro ar to, ka patogēna konīdijas blakus esošajās trahejās iekļūst tikai caur interpunkcijas vietām, tādēļ *Phialophora cinerescens* horizontālā virzīšanās pa augu ir apgrūtināta (Peresse, 1975). Konīdijas brīvi izplatās pa augu ar ūdens plūsmu, tādēļ novērojama auga daļēja vīšana; vai nu novītusi tikai dzinuma galotne vai arī tā vidusdaļa.

Literatūrā ir dažādi uzskati par fialoforās vītes simptomu lokalizēšanās vietu. Vairums autoru uzskata, ka vītes pazīmes izraisa patogēnu izdalītie toksīni un tikai pēc tam notiek traheju mehāniskā nosprostošanās ar sēnes

propagulām, kas traucē ūdena plūsmu. Tādēļ parasti vītes pazīmes novērojamas augstāk nekā patogēna klātbūtne (Baayen, Elgersma, 1985). Mūsu novērojumi un *Phialophora cinerescens* reizolācija tīrkultūrā liek secināt, ka iespējama arī pretēja parādība. Ja sēnes konīdijas iekļuvušas neļķu augšējās daļās, bet kādu laiku paliek neaktīvā stāvoklī, slimības pazīmes nav novērojamas, neskatoties uz patogēna esamību neļķes vadaudos.

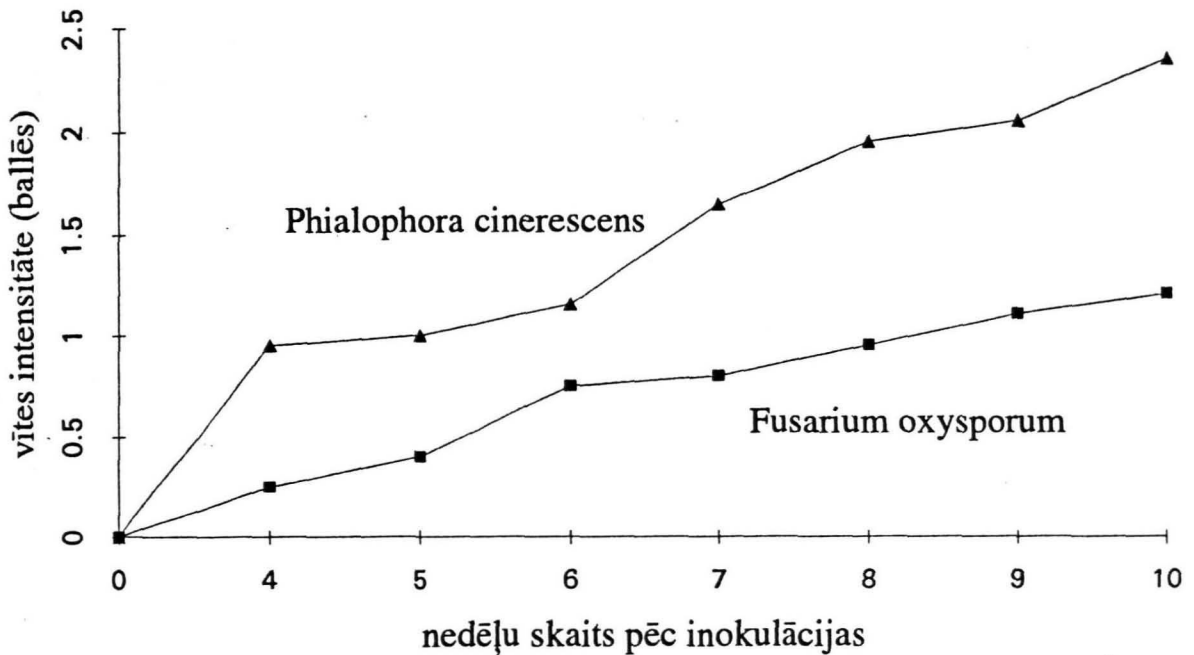
Fuzariālās vītes pazīmes līdzīgas. Galvenā slimības pazīme - turgora samazināšanās neļķes lapās un sekojoša višana. Auga apakšējā daļā lapas dzeltē. Stublāja šķērsriezumā tāpat novērojams nobrūnējis vadaudu gredzens. Slimībai attīstoties, augi nokalst un kļūst salmu dzeltenī (ja vītes ierosinātājs ir *Phialophora cinerescens*, sakaltušajiem augiem sarkana nokrāsa).

Fuzariālā un fialoforā vīte ražojošos neļķu stādījumos praktiski neatšķiramas, jo nelielās krāsu nianšes grūti pamanāmas pat augus tieši salīdzinot. Taču slimības izpausmes formas ir atšķirīgas. Ja neļķes inficētas ar *Fusarium oxysporum*, pamatā novītušas lapas dzinumus apakšējā daļā, bet, ja ierosinātājs ir *Phialophora cinerescens*, visbiežāk slimības attīstības sākumā skarts tikai viens dzinums, dažreiz - tikai viena dzinuma puse. Pēc Onofraša novērojumiem (Onofraш, 1984) slimības attīstības gaita lielā mērā atkarīga no konīdiju uzbūves: sīkākās sporas brīvi pārvietojas pa augu vadaudiem, bet lielākās, īpaši ja tās ir izliektas, konīdijas lokalizējas sakņu kakliņa rajonā. Tādējādi *Phialophora cinerescens* sporas brīvi pārvietojas pa neļķu vadaudiem, kā rezultātā novērojama lokāla vītes izpausme, bet salīdzinoši lielās, sirpjveidīgās *Fusarium oxysporum* makrokonīdijas koncentrējas inficēšanās vietā. Parasti tas ir sakņu kakliņa rajonā, tādēļ višana vienmēr sākas auga apakšējā daļā, vienlaicīgi visos augu dzinumos.

Salīdzināti fialoforās un fuzariālās vītes inkubācijas periodi un attīstības dinamika (sk. 3.3. att.). Pirmās vītes pazīmes novērojamas gandrīz vienlaicīgi abos gadījumos piecas nedēļas pēc inokulācijas, tikai ar *Phialophora cinerescens* inficētajiem augiem slimības pazīmes izteiktākas. Vītes izpausmes praktiski neatšķiras.

Turpmākā novērojumu laikā *Phialophora cinerescens* attīstās straujāk nekā *Fusarium oxysporum* (sk. 3.3. att.). Divus mēnešus pēc inokulācijas var novērot zināmas krāsu nianšes atšķirības, ja patogēns - *Phialophora cinerescens* - nokaltušie dzinumi pelēki dzeltenī ar sārtu nokrāsu, bet *Fusarium oxysporum* skartajiem augiem novītušās apakšējās lapas salmu dzeltenas.

Desmit nedēļas pēc inokulācijas ar *Phialophora cinerescens* inficētie augi novītuši (slimības intensitāte 2,5 balles). Ja patogēns ir *Fusarium oxysporum* - nokaltuši jaunie dzinumi vai tie slikti attīstīti, tomēr neļķes vēl aug un pat zied, vidējā slimības intensitāte 1 balle. Šajā gadījumā augi aiziet bojā četru - piecu mēnešu laikā, reizēm inficētās neļķes dzīvo vēl ilgāk. Vispār, ja vītes ierosinātājs ir *Fusarium oxysporum*, slimība nav tik akūta, tā attīstās lēnāk un neļķes spēj ilgāku laiku veģetēt un zināmu laiku pat ražot.



3.3. att. Neļķu fialoforās un fuzariālās vītes attīstības dinamika.

Mūsu iegūtie dati atšķiras no citu zinātnieku secinājumiem. Pēc Ahmeda novērojumiem (Ахмед, 1990) straujāk attīstās fuzariālā vīte, tipiskas pazīmes 40 dienā, bet fialoforas simptomi novērojami tikai pēc 60 dienām. Tomēr šie secinājumi ir apstrīdami. Ahmeds novērojumus veicis ražojošās siltumnīcās, tātad, nevar izslēgt jauktas infekcijas iespējamību vai sekundāru infekciju ar saprofītiem. Iespējams, ka atšķiras *Phialophora cinerescens* celmu agresivitāte Sankt-Pēterburgā un Latvijā.

Visā novērojumu periodā fuzariālā un fialoforā vīte grūti atšķiramas un ražošanas apstākļos tās praktiski nav identificējamās. Precīzai patogēna noteikšanai nepieciešama sēnes reizolācija tūrkultūrā.

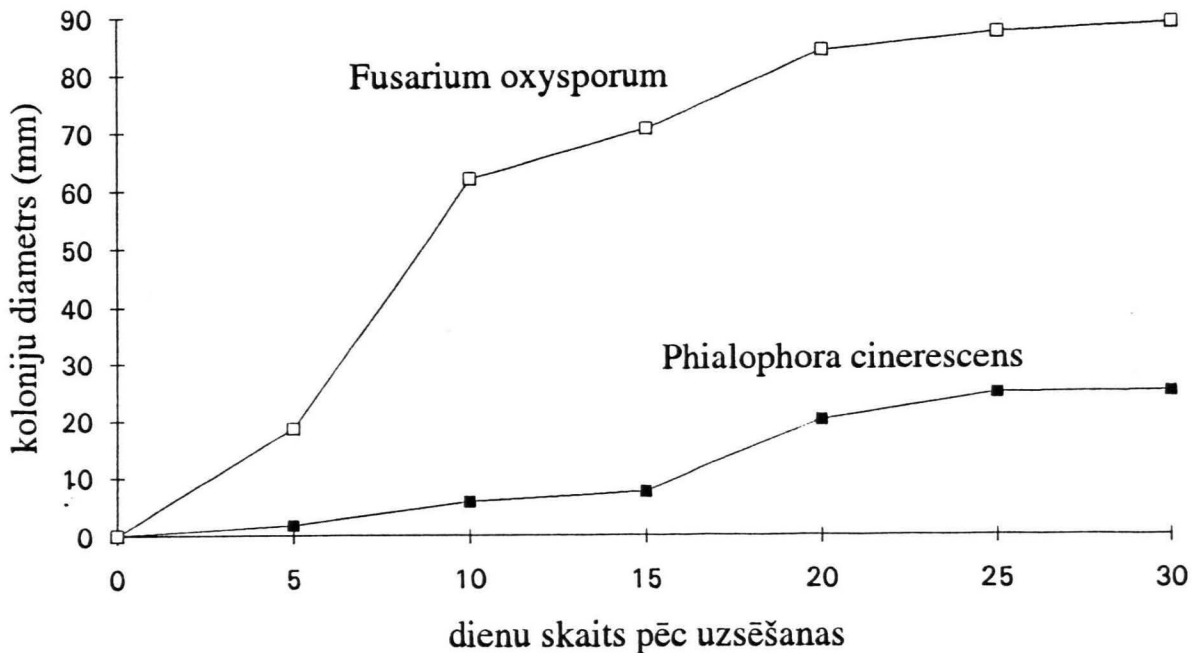
3.3.2. *Phialophora cinerescens* koloniju morfoloģiskās īpatnības

Patogēna precīzākai identifikācijai nepieciešamas ziņas par sēnes attīstības īpatnībām uz dažāda satura barotnēm. *Phialophora cinerescens* augšanas un attīstības īpatnības uz mākslīgajiem substrātiem pētītas maz (Потлайчук, 1971, Салов, 1989). *Phialophora cinerescens* uz barotnēm attīstās slikti un to viegli pārmāc citi mikroorganismi, kas apgrūtina patogēna

identifikāciju slimajos augos, tādēļ svarīgi atrast tādu barības elementu sastāvu barotnē, kas būtu iespējami labvēlīgs *Phialophora cinerescens* augšanai.

Pēc Potlaičukas datiem, *Phialophora cinerescens* koloniju diametrs 21 dienā pēc uzsēšanas sasniedz 38 mm. Līdzīgi rezultāti iegūti mūsu izmēģinājumos. Mēs salīdzinājām *Phialophora cinerescens* un *Fusarium oxysporum* koloniju attīstības dinamiku uz standarta (Čapeka) barotnēm.

Piektajā dienā pēc *Phialophora cinerescens* uzsēšanas kolonijas diametrs tikai 1,7 mm (sk. 3.4. att.). *Fusarium oxysporum* attīstās daudz straujāk, šajā laikā tās kolonijas diametrs jau sasniedz 18,5 mm. 25 dienā pēc uzsēšanas *Fusarium oxysporum* kolonija praktiski pārklāj visu Petri plātes virsmu, bet *Phialophora cinerescens* kolonijas diametrs tikai 16,4 mm.



3.4. att. *Fusarium oxysporum* un *Phialophora cinerescens* koloniju augšanas ātrums uz Čapeka barotnes

Acīmredzams, *Phialophora cinerescens* piemīt izteiktākas parazitārās īpašības, jo, kā noskaidrots iepriekš, šī sēne neļķēs attīstās ātrāk. Turpretim *Fusarium oxysporum* straujāk aug uz mākslīgajām barotnēm.

Audzējot *Phialophora cinerescens* uz dažāda sastāva substrātiem, sēnes koloniju augšanas ātrums ir atšķirīgs (sk. 3.3. tab.).

Cukuru trūkums kavē sēnes lineāro augšanu. Barotnē, kur izslēgta glikoze, 5. dienā pēc uzsēšanas kolonijas diametrs tikai 0,9 mm, izmēģinājumus beidzot- 7,9 mm (standarta barotnē attiecīgi 1,7 un 16,4 mm). Ja substrātā trūkst

cukuru un slāpekļa, sēne tomēr aug nedaudz ātrāk, salīdzinot ar iepriekšminēto barotni. Acīmredzot, slāpekļis, ja ir cukuru deficīts, kavē *Phialophora cinerescens* augšanu. Glikozi aizstājot ar maltozi, sēnes augšana paātrinās. Šajā variantā visā izmēģinājumu gaitā koloniju diametrs divreiz lielāks nekā standarta variantā.

Slāpekļa trūkums sēnes augšanu būtiski nekavē, vismaz 25 dienas, kamēr turpinājās eksperiments.

Ja lietota organiska barotne (neļķu ūdens izvilkums un agars), *Phialophora cinerescens* aug līdzīgi kā standarta variantā. Šai barotnei pievienojot glikozi, tiek radīti ļoti labvēlīgi apstākļi sēnes augšanai. Izmēģinājumus beidzot, kolonijas diametrs sasniedz 28,9 mm.

3.3. tabula

Phialophora cinerescens koloniju diametrs atkarībā no substrāta (mm)

Barotne	Dienu skaits pēc uzsēšanas				
	5	10	15	20	25
Čapeka barotne	1.7	4.4	8.2	13.9	16.4
Čapeka barotne bez slāpekļa un bez cukura	1.0	2.5	4.2	7.8	11.6
Čapeka barotne (nātrija nitrāts aizstāts ar amonija nitrātu)	0.9	2.5	4.2	7.8	14.3
Čapeka barotne (glikoze aizstāta ar maltozi)	2.7	9.0	16.6	23.9	27.8
Čapeka barotne bez cukuriem	0.5	2.7	3.8	5.6	7.9
Čapeka barotne bez slāpekļa	0.9	2.7	7.0	10.0	17.5
Neļķu izvilkums	1.3	3.3	9.5	12.4	17.0
Neļķu izvilkums ar glikozi	1.7	5.1	13.9	23.8	28.9

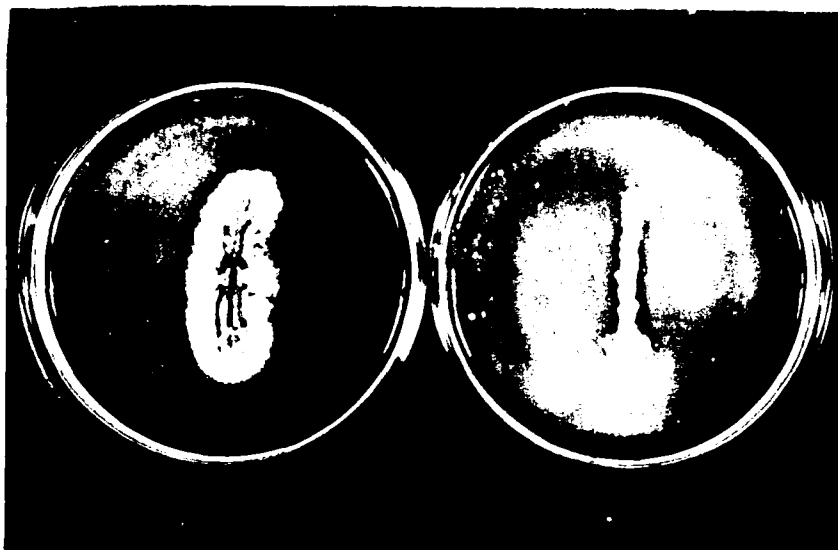
Koloniju diametrs, tas ir, sēnes lineārais augšanas ātrums, nedod pilnīgu priekšstatu par *Phialophora cinerescens* micēlija attīstību, liela nozīme ir sēnes koloniju struktūrai, krāsai un barotnes pigmentācijai. Tipiskās *Phialophora cinerescens* pazīmes novērojamas 7-10 dienā pēc uzsēšanas (sk. 3.4. tab. un 3.5. att.).

Standarta barotnē (Čapeka) *Phialophora cinerescens* micēlijs pirmajās augšanas dienās balts, vēlāk tas kļūst pelēks. Zonalitāte novērojama piektajā dienā pēc uzsēšanas, bet galīgo krāsu un struktūru kolonija iegūst septītajā

3.4. tabula.

Phialophora cinereascens koloniju morfoloģiskās pazīmes in vitro atkarībā no substrāta

Barotne	Koloniju krāsa	Barotnes pigmentācija	Koloniju struktūra un micēlija īpatnības
Čapeka barotne (standarts)	balta, vēlāk pelēka	pelēki dzeltena	micēlijs blīvs, pūkains, paceļas virs substrāta; izteikta zonalitāte; centrs olīvzaļš, koloniju malas gaiši pelēkas, gandrīz baltas; malas līdzenas, centrā micēlijs piepacelts
Čapeka barotne bez slāpekļa un bez cukuriem	balta, pēc tam gaiši pelēka	gaiši pelēka	micēlijs ļoti rets, tīmekļveida, zonalitāte nav izteikta, koloniju malas izplūdušas
Čapeka barotne (nātrija nitrāts aizstāts ar amonija nitrātu)	balta, vēlāk pelēka	pelēki dzeltena	micēlijs blīvs, pūkains, krasi izteikta zonalitāte, koloniju malas līdzenas, centrs piepacelts
Čapeka barotne (glikoze aizstāta ar maltozi)	balta, vēlāk pelēka	pelēki dzeltena	micēlijs blīvs, pūkains, vietām graudains, krasi izteikta zonalitāte, kolonijas centrs gandrīz melns, tālāk pelēks, malas baltas; koloniju malas līdzenas, centrs piepacelts
Čapeka barotne bez cukuriem	gaiši pelēka	tumši pelēka	micēlijs rets, pūkains, klājas pa substrātu, zonalitāte nav izteikta, malas izplūdušas
Čapeka barotne bez slāpekļa	balta, vēlāk pelēka, pēc tam tumši pelēka	tumši pelēka	micēlijs tīmekļveida, klājas pa substrātu, zonalitāte neizteikta, koloniju malas izplūdušas, centrs piepacelts
Neļķu izvilkums	balta, vēlāk pelēka	dzeltenī pelēka	micēlijs rets, pūkains, substrātu noklāj nevienmērīgi, zonalitāte tikko izteikta, koloniju malas līdzenas
Neļķu izvilkums ar glikozi	balta, vēlāk pelēka	dzeltenī pelēka	micēlijs vidēji blīvs, pūkains, paceļas virs substrāta, zonalitāte tikko manāma, koloniju malas līdzenas, centrs piepacelts



1. Čapeka barotne
2. Čapeka barotne bez slāpekļa un bez cukura



3. Čapeka barotne (nātrija nitrāts aizstāts ar amonija nitrātu)
4. Čapeka barotne (glikoze aizstāta ar maltozi)

3.5. att. *Phialophora cinerescens* koloniju struktūra atkarībā no barotnes



5. Čapeka barotne, izslēdzot slāpekli
6. Čapeka barotne, izslēdzot cukuru



7. Neļķu-agara barotne
8. Neļķu-agara barotne, pievienojot glikozi

3.5. att. turpinājums

dienā. Kolonijas centrs tumši pelēks, tālāk pelēka josla un malas baltas. Zonalitāte krasi izteikta. Koloniju malas lidzenas, stingri norobežotas, centrs nedaudz piepacelts. Micēlijs biezs, pūkains, paceļas virs substrāta. Barotne krāsojas dzeltenīgi pelēka.

Sēnes augšanas ātrumu un attīstību ievērojami ietekmē cukuru saturs un sastāvs substrātā. Ja barotne nabadzīga, tas ir, trūkst cukuru, *Phialophora cinerescens* aug lēni un zonalitāte tikko manāma: pelēkās un gaišās joslas plūstoši pāriet viena otrā. Koloniju malas izplūdušas, nenoteiktas. Mainās micēlija struktūra, tas ir rets, klājas pa substrāta virsmu, nepaceļoties virs tās. Augšanas vide krāsojas tumši pelēka.

Čapeka barotnē glikozi aizstājot ar maltozi, *Phialophora cinerescens* aug ļoti strauji. Sēnes kolonijai un micēlijam piemīt visas raksturīgās morfoloģiskās īpatnības. Tai krasi izteikta zonalitāte, centrs gandrīz melns, tālāk asi norobežotas gaišāk un tumšāk pelēkas joslas, malas baltas. Micēlijs biezs, pūkains, kolonijas vecākajās daļās graudains. Acīmredzot, *Phialophora cinerescens* disaharīdus izmanto labāk nekā monosaharīdus. Līdzīgus rezultātus ieguvusi arī V. Potlaičuka [Потлайчук, 1971].

Ja barotnē trūkst slāpekļa, sēnes micēlijam un kolonijai kopumā neveidojas raksturīgās *Phialophora cinerescens* pazīmes. Šajos variantos sēnes kolonijas pelēkas, zonalitāte tikpat kā nav manāma. Koloniju malas izplūdušas. Micēlijs rets, tīmekļveida, klājas pa substrāta virsmu. Augšanas vide krāsojas tumši pelēka.

Slāpekļa daudzumu barotnē palielinot (NaNO_3 aizstājot ar NH_4NO_3), *Phialophora cinerescens* aug lēnāk kā uz standarta barotnes. Slāpekļa pārbagātība kavē sēnes augšanu, taču netraucē micēlija attīstību. Koloniju morfoloģiskās īpatnības, micēlija struktūra un barotnes pigmentācija atbilst sēnes raksturīgajām pazīmēm uz standarta barotnes.

Neļķu-agara barotnē maz sēnei nepieciešamo barības vielu, micēlijs aug salīdzinoši ātri, tomēr tas ir rets, pārklāj substrātu nevienmērīgi. Visumā uz šīs barotnes *Phialophora cinerescens* piemīt raksturīgās īpatnības.

Bagātinot neļķu agara barotni, pievienojot glikozi, iegūts sēnes augšanai un attīstībai samērā labvēlīgs substrāts. Uz šīs barotnes *Phialophora cinerescens* aug ātri, saglabājot raksturīgās morfoloģiskās pazīmes. Tikai zonalitāte nav izteikta, jo sēne substrātu pārklāj nevienmērīgi.

Visās barotnēs konīdijas novērojamas piektajā dienā pēc uzsēšanas. Mikroskopā nekādas sporu morfoloģiskās atšķirības nav novērojamas, neatšķiras arī to izmēri. Konīdiju uzskaitē veikta 20 un 25 dienā pēc uzsēšanas, ātrāk to izdarīt tehniski ļoti sarežģīti (sēnes koloniju aizņemtais laukums pārāk mazs, lai varētu noskatot vienādu micēlija platību visos variantos).

Dažāds barības elementu sastāvs substrātā atšķirīgi ietekmē sēņotnes augšanas ātrumu un sporu veidošanās intensitāti. Sporulāciju sekmē slāpekļa klātbūtne substrātā. Ja nātrija nitrāts tiek aizstāts ar amonija nitrātu (tātad,

barotnē palielināts slāpekļa daudzums), strauji pieaug sporulācijas intensitāte (sk. 3.5. tab.). Šajā variantā uzskaitīts vislielākais konīdiju daudzums. Turpretim sēnes augšana notiek lēnāk nekā standarta variantā.

Sporu veidošanos, tāpat kā micēlija augšanu, veicina glikozes aizstāšana ar maltozi.

Visos gadījumos, ja substrātā trūkst kāds no barības elementiem, konīdiju daudzums ir mazāks nekā standarta barotnē. Īpaši sporu veidošanās intensitāti ietekmē slāpekļa deficīts. Šajos variantos konīdiju daudzums ir vismazākais, un, kolonijai novecojot, vērojama tendence sporu skaitam vēl vairāk samazināties, bet bagātājās barotnēs sporu daudzums laika gaitā palielinās. Ja substrātā trūkst gan slāpekļi, gan cukuri, konīdiju daudzums tomēr nedaudz lielāks nekā variantā, kur cukuru ir pietiekoši, bet trūkst slāpekļi. Acīmredzot, vairošanās orgānu veidošanos kavē slāpekļa trūkums, īpaši, ja ogļhidrātu un slāpekļa daudzums ir nesabalansēts. Arī cukuru trūkums samazina konīdiju veidošanos, tomēr mazāk nekā slāpekļa deficīts.

3.5. tabula

Phialophora cinerescens konīdiju daudzums atkarībā no barotnes sastāva

Barotne	Konīdiju daudzums	
	20 dienas pēc uzsēšanas	25 dienas pēc uzsēšanas
Čapeka barotne	350	1340
Čapeka barotne bez slāpekļa un bez cukuriem	181	350
Čapeka barotne (nātrija nitrāts aizstāts ar amonija nitrātu)	489	7180
Čapeka barotne (glikoze aizstāta ar maltozi)	1763	3482
Čapeka barotne bez slāpekļa	171	450
Čapeka barotne bez cukura	125	110
Neļķu izvilkums	150	270
Neļķu izvilkums ar glikozi	243	224

Neļķu agara barotnes neveicina konīdiju veidošanos, salīdzinot ar kontroles variantu.

Tātad, lai panāktu intensīvu konīdiju veidošanos, nepieciešamas barotnes ar bagātīgu un, galvenais, sabalansētu barības vielu saturu.

Pētījumos, kas saistīti ar *Phialophora cinerescens* izolēšanu no slimajiem augiem un tās pavairošanu uz mākslīgajām barotnēm, ieteicams lietot

modificētas Čapeka barotnes, kuru sastāvā nātrija nitrāts aizstāts ar amonija nitrātu vai glikoze ar maltozi. Atkarībā no pētījumu mērķa, iepriekš minētās barotnes nodrošinās ātru micēlija augšanu un attīstību vai arī intensīvu konīdiju veidošanos.

Atsevišķos gadījumos var lietot arī neļķu-agara barotnes, tomēr jāatzīmē, ka šīs barotnes sagatavošana ir sarežģītāka un darbietilpīgāka.

3.3.3. *Phialophora cinerescens* mikroskopiskā uzbūve

Phialophora cinerescens van Beyma, syn. *Verticillium cinerescens* pieder *Deuteromycetes* klasei, *Hypnomycetales* rindai, *Dematiaceae* klasei (Schol-Schwarz, 1935). *Phialophora* ģints sistematiku pētījusi arī Potlaičuka (Потлайчук, 1971, 1972, 1986).

Tomēr šādu pētījumu ir ļoti maz, Latvijā izolētā *Phialophora cinerescens* celma mikroskopiskā uzbūve līdz šim nav pētīta vispār.

Gaismas mikroskopā sēnes micēlijs bezkrāsains, hifas daudzšūnu, zarotas, plāniem šūnapvalkiem. Hifu šūnas dažāda lieluma, cilindriskas, dažas no tām neregulāras formas. Kolonijai novecojot, hifu uzbūve nemainās, tās kļūst tumšākas un hifu šūnapvalki kļūst biezāki. Literatūrā (Ахмед, 1990) minētās hlamidosporas netika konstatētas.

Phialophora cinerescens piemīt raksturīga konīdijnesēju uzbūve, kas ir drošākā sēnes identifikācijas pazīme. Konīdijnesēji sakopoti slotiņās, sterigmas pudeļveida. Konīdijas bezkrāsainas, vienzūnas.

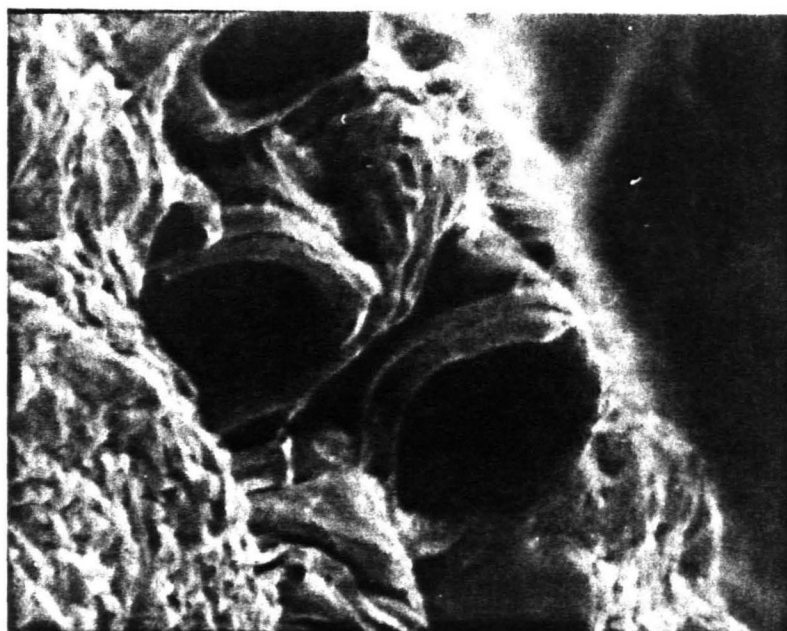
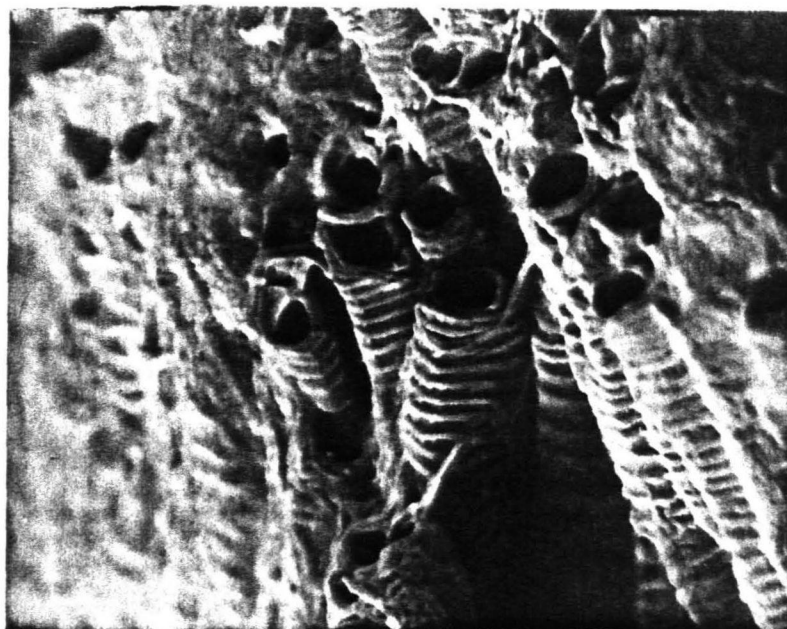
Skanējošais mikroskops tiek veiksmīgi izmantots patogēno sēņu uzbūves un to bioloģijas pētījumos (Brown, 1982, Welch, 1973, Kazuho, 1986). Tomēr *Phialophora cinerescens* skanējošā mikroskopā līdz šim nebija novērota.

Izmantojot skanējošo mikroskopu, mums izdevās precizēt *Phialophora cinerescens* morfoloģiskās īpatnības, novērot sēnes attīstību neļķu vadaudos, konīdiju veidošanos un to dīgšanu.

Phialophora cinerescens attīstās neļķu ksilēmā. Sēnes hifas apvij un caurvij trahejas, veidojot biezu micēlija pinumu, kas aizsprosto vadaudus, kavējot ūdens plūsmu (sk. 3.6. att.). Šajā laikā vizuāli (bez mikroskopa) neļķu stublāja šķērsgriezumā vērojams pilnīgi vai daļēji nobrūnējis vadaudu gredzens.

Patogēna ātru izplatīšanos pa augu sekmē konīdijas, kas veidojas tieši neļķu vadaudos. 3.7. attēlā redzams *Phialophora cinerescens* hifu pinums un jau izveidojusies konīdiju galviņa.

Mikroskopā labi novērojama konīdijnesēju uzbūve, tie ir vairākkārt zaroti un veido slotiņu. Sterigmas pudeļveida, to pamatne platāka, uzbiezināta, galiņš nedaudz ieliekts (sk. 3.8. att.). Konīdijnesēju galos eksogēni attīstās konīdijas.



3.6. att. *Phialophora cinerescens* micēlija attīstība neļķu ksilēmā: 1) hifu pinums aizsprosto vadaudus (palielinājums 10000 reižu), 2) hifas apvij un caurvij neļķu trahejas (palielinājums 20000 reižu)



3.7. att. *Phialophora cinerescens* veidošanās neļķu vadaudos (palielinājums 10000 reižu): 1) konīdijnesēju galos veidojas konīdijas, 2) hifu pinumā izveidojusies konīdiju galviņa

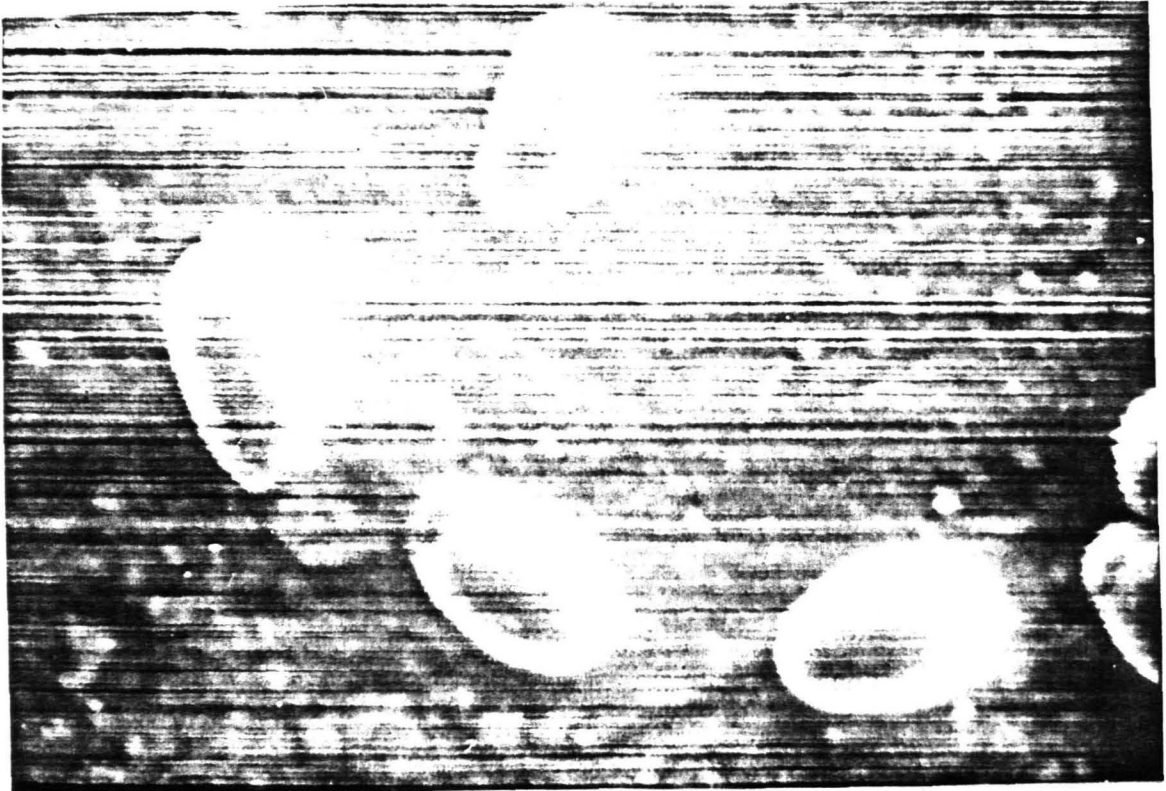


3.8. att. *Phialophora cinerescens* konīdijnesēju un konīdiju uzbūve (palielinājums 20000 reižu): 1) vairākkārt zaroti konīdijnesēji veido pušķīti, 2) "tupelītes"veida konīdijas sakopotas irdenā galviņā

Katrā sterigmas galā veidojas konīdiju galviņa. Tā ir irdena, vēlāk konīdijas izirst pa vienai.

Skanējošā mikroskopā labi novērojama *Phialophora cinerescens* sporu uzbūve (sk. 3.9. att.). Tās ir viensūnas, literatūrā tiek raksturotas kā elipsveida. Tomēr šī elipse nav pareiza, sporas vienā malā nedaudz ieliektas un pēc formas jaunās konīdijas atgādina tupelīti. Sporu galiņi noapaļoti.

Gatavojoties dīgšanai, konīdijas piebriest, noapaļojas un kļūst elipsveida. Vienā konīdijas galā veidojas dīgļstobrs (sk. 3.9. att.).



3.10. att. *Phialophora cinerescens* konīdijas skanējošā mikroskopā (palielinājums 30000 reizes): 1) konīdija pirms dīgšanas, 2) dīgļstobra veidošanās konīdijas galā

3.3.4. Konīdiju dīgšana

Mūsu novērojumos konstatēts, ka *Phialophora cinerescens* konīdijas sāk veidoties piektajā dienā pēc uzsēšanas. Konīdiju uzbūve un izmēri neatšķiras, vienalga, vai sēne izolēta no dabiski saslimušiem augiem vai audzēta uz mākslīgajiem substrātiem. Pārbaudot dažāda sastāva barotnes, konstatēts, ka barības elementu sastāvs ietekmē sporu veidošanās intensitāti, bet neietekmē to morfoloģiju un izmērus.

Ahmeda novērojumos konstatēti sekojoši *Phialophora cinerescens* konīdiju izmēri- 5,23-5,54 x 1,95-2,65 μm (Ахмед, 1990). Tomēr mūsu izmēģinājumos novērotas sīkākas un neizlīdzinātākas sporas. Nobriedušu konīdiju izmēri 2,0-4,0 x 1,5-2,0 μm. Līdzīgi dati iegūti Grebeņuka pētījumos (Гребенюк, 1980).

Konīdijas mērītas tūlīt pēc noskalošanas no *Phialophora cinerescens* tīrkultūras un pēc vienas diennakts, kad sporas nobriedušas dīgšanai.

3.6. tabula

Phialophora cinerescens konīdiju izmēri (μm)

Konīdiju platums	% no kopējā skaita	Konīdiju garums	% no kopējā skaita
miera stadija			
1.0	2.9	2.0	12.9
1.5	95.7	2.5	17.1
2.0	1.4	3.0	52.8
		3.5	8.6
		4.0	8.6
pirms dīgšanas			
1.5	30.0	2.0	10.0
2.0	70.0	2.5	30.0
		3.0	36.0
		3.5	13.3
		4.0	10.0

Miera stadijā vairums konīdiju ir 3,5 x 1,5 μm, un tikai ļoti neliela daļa ir nedaudz lielākas vai mazākas.

Pirms dīgšanas konīdijas piebriest un noapaļojas, vairumā gadījumu to izmēri 2,0 x 3,5 μm.

Dažādi zinātnieki ieguvuši atšķirīgus *Phialophora cinerescens* sporu izmērus. Iespējams, dažādiem šīs sēnes celmiem ir dažādi konīdiju izmēri.

Tomēr Latvijā izolētajai *Phialophora cinerescens* konīdiju lielumi neatšķiras, neatkarīgi no sēnes tīrkultūras iegūšanas vietas. Iespējams, Latvijā sastopamā *Phialophora cinerescens* populācija ir salīdzinoši viendabīga.

Inficēšanās procesa izpratnē liela nozīme pētījumiem par patogēna konīdiju dīgšanas ātrumu un to veicinošiem apstākļiem.

Ūdens pilienā konīdiju dīgšana sākas pēc 24 stundām. Šajā laikā dīgļstobrs sācis veidoties 49% konīdiju, tā vidējais garums 9,9 μm. Praktiski dīgt nav sākušas sīkākās konīdijas, kuru izmēri nepārsniedz 1,0 x 1,2 μm. 72 stundas pēc ievietošanas mitrajā kamerā sadīgušas 86 % konīdiju, dīgļstobra garums sasniedzis 12,5 μm. Nākamajā dienā sākas micēlija veidošanās, tas ir dīgļstobrs sāk zaroties. Nedēļas laikā izveidojas konīdijnesēji ar jaunajām konīdijām. Līdzīgi rezultāti iegūti, novērojot konīdiju dīgšanu citos šķīdumos. Saharozes pievienošana ūdenim nepalielina dīgšanas ātrumu. Visātrāk konīdijas sadīgst augsnes izvilkumā, daļa sporu sadīgušas jau pēc 12 stundām. Turpmāk konīdiju attīstība augsnes izvilkumā nav straujāka kā ūdenī. Tātad augsnē esošās vielas veicina konīdiju dīgšanu, bet ne patogēna augšanu. *Phialophora cinerescens* strauju attīstību veicina vielas, ko izdala neļķu saknes, jo sakņu izvilkumā jau pēc 48 stundām veidojas micēlijs.

Konīdiju dīgšana un attīstība ūdens pilienā modelē sēnes attīstību neļķes vadaudos. Sēne brīvi vairojas ksilēmas starpšūnu telpā, un tā kā konīdijas salīdzinoši ir ļoti sīkas, tās ar ūdeni pārvietojas uz jaunajām augu daļām. Tas izskaidro atsevišķu dzinumu daļu novīšanu un ievērojami apgrūtina sēnes diagnostiku, jo, lai patogēnu izolētu, jānogriež tas audu gabaliņš, kur šī konīdija atrodas, kas grūti izdarāms.

Konīdijas ledusskapī viegli uzglabājamas ūdens suspensijā. Pēc sasaldēšanas un sekojošas atkausēšanas, tās dīgst un attīstās, iegūtie rezultāti neatšķiras no iepriekšējiem.

3.4. *Phialophora cinerescens* specializācija

Literatūrā ir fragmentāras ziņas par iespējamo *Phialophora cinerescens* saimniekaugu loku. Tomēr, tā kā *Phialophora cinerescens* bieži tiek jaukta ar *Verticillium albo-atrum*, kas ir plaši specializēts patogēns, šīs ziņas ir jāpārbauda. Bez tam interesanti noskaidrot tieši Latvijā izolētā *Phialophora cinerescens* celma agresivitāti attiecībā pret citām kultūrām. Patogēna specializācijas noteikšanai ir praktiska nozīme, jo tas dod zināmu priekšstatu par patogēna uzkrāšanos dabā un iespējamiem infekcijas rezervuāriem.

Šī jautājuma noskaidrošanai ar *Phialophora cinerescens* tīrkultūru inokulētas plašāk audzētās siltumnīcu kultūras, kurām ir raksturīgas traheomikozes (gurķi, tomāti un citas) un neļķu dzimtas augi- *Dianthus caryophilus*, *Dianthus barbatus*, *Dianthus plumaris* un arī *Gypsophila spp.*

Visi šie neļķu dzimtas augi viegli inficējās ar *Phialophora cinerescens*. Četras nedēļas pēc inokulācijas novērojami tipiski fialoforās vītes simptomi, līdzīgi kā uz remontantneļķēm, un pēc diviem mēnešiem visi augi bija aizgājuši bojā. No novītušajiem augiem *Phialophora cinerescens* reizolēta tīrkultūrā. Šie izmēģinājumi dod pamatu secinājumam par iespējamu patogēna uzkrāšanos dabā, piemēram, uz atsevišķām neļķu dzimtas nezālēm, kā arī uz brīvā dabā augošām dažādu sugu neļķēm.

Citu dzimtu augus ar *Phialophora cinerescens* nebija iespējams inficēt. *Phialophora cinerescens* atzīstams par samērā šauri specializētu patogēnu.

Integrētās augu aizsardzības būtisks posms ir pret slimībām izturīgu, vai vismaz relatīvi izturīgu šķirņu audzēšana.

Pasaulē pazīstamas remontantneļķu šķirnes, kas ir vairāk vai mazāk izturīgas pret *Fusarium oxysporum*. Attiecībā par *Phialophora cinerescens* konkrēti rezultāti literatūrā nav atrodamī. Atsevišķi novērojumi ražojošos neļķu stādījumos izdarīti Melnās jūras piekrastē un Sankt-Pēterburgas apkārtnē. Tomēr, mūsaprāt, šādos apstākļos izdarītie secinājumi nav pārliecinoši, jo fialoforās vītes intensitāti varēja ietekmēt dažādi faktori, īpaši citu patogēno mikroorganismu klātbūtne, jo, kā liecina mūsu novērojumi, siltumnīcās visbiežāk novērojama kompleksa infekcija. Lai konstatētu šķirnes ieņēmību pret konkrēto patogēnu *Phialophora cinerescens*, mūsaprāt, tomēr nepieciešama augu inokulācija ar slimības ierosinātāja tīrkultūru.

Mūsu izmēģinājumos pārbaudītas septiņas Latvijā plašāk audzētās neļķu šķirnes, tai skaitā arī 'Jaguar', kas tiek pieskaitīta pret vīti izturīgo šķirņu grupai.

Pirmie vītes simptomi novēroti četras nedēļas pēc inokulācijas (sk. 3.7. tab.). Visizteiktākās vītes pazīmes Lena un White šķirņu neļķēm - atsevišķas lapas zaudējušas turgoru un kļuvušas viegli pelēcīgas. Šajā laika periodā saslimuši tikai atsevišķi augi, visos variantos vēl sastopamas neļķes bez vītes pazīmēm. Absolūti veseli (vizuāli) Carnaval un Jaguar šķirņu augi. Tomēr, vītes intensitāte visos variantos līdzīga, un datu matemātiskā apstrāde (sk. 1. piel.) liecina, ka starp šķirnēm nav būtisku atšķirību.

Turpmākā laika periodā vītes intensitāte pakāpeniski pieaug, un vienu nedēļu vēlāk izteiktāki vai mazāk izteikti fialoforās vītes simptomi novērojami visos variantos. Astoņas nedēļas pēc inokulācijas atšķirības vītes intensitātē starp šķirnēm jau būtiskas ($F_{\text{fakt.}} > F_{\text{teor.}}$), mazākā būtiskā starpība - 0,49 balles). 'White Sim', 'Lena' un 'Carnaval' ļoti tipiskas *Phialophora cinerescens* pazīmes - novītuši atsevišķi dzinumi. Pārējos variantos novērojami tikai pirmie vītes simptomi.

Turpmāk fialoforās vītes intensitāte pastiprinās, augi daļēji sāk nokalst, visizteiktāk - 'White' un 'Lena'. Salīdzinoši veselākas - Nora, Carnaval šķirņu neļķes. Arī 'Jaguar' augiem tipiskas vītes pazīmes. Šajā laikā atšķirības starp dažādām šķirnēm vītes intensitātē ir būtiskas ($\gamma = 0,6$ balles). Interesanti, ka Carnaval šķirnes neļķes inficējās salīdzinoši ātri, pirmās vītes pazīmes varēja

3.7. tabula

Fialoforās vītes intensitāte neļķēs atkarībā no šķirnes (ballēs)

Novērojumu datums	Nedēļu skaits pēc inokulācijas	γ	William Sim	Nora	White Sim	Jaguar	Lena	Dark Lena	Carnaval
23.03	4	0.271	0.05	0.15	0.10	0	0.15	0.05	0
30.03	5		0.55	0.30	0.80	0.20	0.85	0.55	0.40
06.04	6		0.65	0.55	1.65	0.55	1.65	0.95	1.20
13.04	7		0.80	0.55	1.70	0.90	1.80	1.05	1.45
20.04	8	0.491	0.95	0.75	1.90	1.00	2.15	1.20	1.45
27.04	9		1.05	0.90	2.00	1.05	2.40	1.25	1.45
04.05	10		1.65	1.10	2.60	1.25	2.75	1.55	1.65
11.05	11		1.85	1.25	2.70	1.70	2.80	1.90	1.70
18.05	12		2.00	1.55	2.90	2.00	2.80	2.00	1.90
25.05	13	0.632	2.20	1.70	3.10	2.25	3.10	2.40	2.05
01.06	14		2.40	1.95	3.20	2.25	3.10	2.50	2.10
08.06	15		2.40	2.10	3.30	2.40	3.10	2.65	2.20
15.06	16		2.50	2.45	3.30	2.60	3.10	2.80	2.45
22.06	17		2.90	2.75	3.45	3.00	3.15	2.95	2.80
29.06	18		3.00	2.90	3.50	3.30	3.40	3.10	3.05
06.07	19		3.30	2.90	3.70	3.40	3.55	3.15	3.10
13.07	20		3.35	2.95	3.70	3.40	3.55	3.15	3.15
20.07	21		3.60	3.30	3.90	3.40	3.70	3.15	3.20

novērot tieši šajā variantā, bet vēlāk šīs šķirnes augos slimības attīstība noritēja lēnāk.

Tālākā izmēģinājumu gaitā saslimšanas intensitāte palielinās arvien straujāk. Divus mēnešus pēc inokulācijas novērojamas viskrasākās atšķirības vītes ieņēmībā starp dažādām šķirnēm. Visjūtīgākās ir 'White Sim' un 'Lena', līdzīgus rezultātus ieguvīs arī Ahmeds (Ахмед, 1990), viņa novērojumos iepriekšminētās šķirnes bijušas visieņēmīgākās gan pret *Phialophora cinerescens*, gan *Fusarium oxysporum*. Mazāk ieņēmīgas- 'William Sim', 'Jaguar' un 'Dark Lena', bet relatīvi visizturīgākās- 'Nora' un 'Carnaval'.

Turpmāk vītes intensitātei palielinoties, daļa augu sāk nokalst visos variantos un pakāpeniski atšķirības starp šķirnēm izlīdzinās.

Novērojumus beidzot, 21 nedēļas pēc inokulācijas, visi vai gandrīz visi augi praktiski nokaltuši. Atšķirības vītes intensitātē starp šķirnēm vairs nav būtiskas. Gala rezultātā neļķes aiziet bojā gandrīz vienlaicīgi. Īpaši jāatzīmē, ka pret *Fusarium oxysporum* izturīgā 'Jaguar' tomēr ieņēmīga pret *Phialophora cinerescens*. Lai gan fialoforās un fuzariālās vītes ārējie simptomi ļoti līdzīgi, šo slimību ierosinātāju bioloģiskās īpašības atšķirīgas. Tādēļ secinājumus, kas iegūti, pētot *Fusarium oxysporum*, nevar tieši attiecināt uz *Phialophora cinerescens* ierosināto neļķu vīti.

Jāsecina, ka, diemžēl, mūsu valstī netiek audzētas šķirnes, kas būtu kaut vai daļēji izturīgas pret *Phialophora cinerescens*. Lai gan izmēģinājumu gaitā starp šķirnēm vītes ieņēmībā novērota zināma atšķirība, tomēr tam nav praktiskas nozīmes, jo būtībā vītes intensitāte atšķirīga tikai izmēģinājumu sākumā. Piecu-sešu mēnešu laikā visu šķirņu augi nokalst. Šis jautājums ļoti problemātisks visā pasaulē, acīmredzot, šobrīd mums pietrūkst zināšanas, lai izveidotu pret *Phialophora cinerescens* imūnas šķirnes.

3.5. Inficēšanās process

3.5.1. Inkubācijas periods un patogēna iekļūšana augos

Izstrādājot bioloģiski pamatotus aizsardzības pasākumus pret neļķu traheomikozēm, svarīgi noskaidrot inficēšanās avotus un to veicinošos apstākļus. Ir zināms, ka neļķes ar *Fusarium oxysporum* galvenokārt inficējas caur augsni [Glaser, 1984, Nilsson, 1965]. Vairums autoru uzskata, ka inficēšanās var notikt tikai caur mehāniski bojātiem audiem. Par inficēšanos ar *Phialophora cinerescens* ziņas ir ļoti fragmentāras, arī pretrunīgas. Attiecībā par *Phialophora cinerescens* inkubācijas periodu literatūrā ir ļoti dažādas ziņas, tiek minētas 18 un arī 106 dienas [Wickens, 1935, Салов, 1980, Гребенюк, 1988]. Dažādu autoru iegūtos datus neiespējami savstarpēji salīdzināt, jo inficēšanos un inkubācijas periodu ietekmē vides apstākļi un pat katras neļķes

individuālais fizioloģiskais stāvoklis, lai gan šis ietekmes mehānisms nav skaidri zināms.

Lai noskaidrotu *Phialophora cinerescens* inkubācijas perioda ilgumu un apstākļus, kas veicina inficēšanos, iekārtots izmēģinājums, inokulējot neļķes ar dažādiem paņēmieniem: inficējot sakņu kakliņu un stublāju, augus iepriekš ievainojot vai arī ne, izmantojot dažādu inokulācijas materiālu- micēliju vai konīdijas.

Pirmās vītes pazīmes novērotas 14 dienas pēc inokulācijas gandrīz visos variantos. Atsevišķiem augiem lapas zaudējušas turgoru un kļuvušas pelēcīgi zaļas. Fialoforās vītes simptomi novērojami visos variantos, kur augi ievainoti (sk. 3.8. tab.), tomēr daudzos gadījumos slimības intensitāte ļoti neliela. Lai konstatētu būtiskās atšķirības, veikta datu matemātiskā apstrāde, izmantojot dispersijas metodi (sk. 2. pielikumu). Dati ir ticami, jo $F_{\text{fakt.}} > F_{\text{teor.}}$, tātad vītes intensitātes atšķirības šajā periodā nosaka inokulācijas paņēmiens. Vislielākā slimības intensitāte variantā, kur neļķes inficētas konīdiju suspensiju uzlejot ievainotam sakņu kakliņam (0,5 balles), mazliet zemāka, ja inokulēts ievainots sakņu kakliņš ar micēliju (0,16 balles). Pārējie varianti savstarpēji būtiski neatšķiras (mazākā būtiskā starpība- 0,3 balles).

Septiņas nedēļas pēc inokulācijas gandrīz visos variantos novērojami tipiski slimības simptomi (fialoforās vītes intensitāte svārstās no 0...3,27 ballēm), un gandrīz visi varianti savstarpēji būtiski atšķiras, $\gamma = 0,7$ balles. Visaugstākā slimības intensitāte bija tajā variantā, kur augsnei uzlieta konīdiju suspensija, ievainojot sakņu kakliņu, un otrkārt, tajā, kur augsnē ievietots *Phialophora cinerescens* micēlijs, ievainojot sakņu kakliņu. Izteiktas slimības pazīmes arī variantos - augsne salieta ar konīdiju suspensiju, augsnē ievietots micēlijs, micēlijs novietots uz ievainota neļķes stublāja un konīdiju suspensija uz ievainota stublāja. Variantos, kur inficēšana veikta caur neievainotu stublāju, vītes pazīmes niecīgas vai arī to vispār nebija.

Visgarākais inkubācijas periods (12 nedēļas) novērots variantā, kur inokulācija veikta, micēliju novietojot uz neievainota neļķes stublāja. Šajā laikā vītes intensitāte būtiski atšķiras visos variantos. Ja inokulācija veikta caur augsni, ievainojot sakņu kakliņu, augi tuvu galīgai bojā ejai (slimības intensitāte no 3,55 līdz 3,77 ballēm). Pārējos variantos tipiskas fialoforās vītes pazīmes (slimības intensitāte no 0,88 līdz 2,38 ballēm), bet, ja ar micēliju inokulēts neievainots neļķes stublājs, novērojamas tikai pirmās vītes pazīmes (slimības intensitāte 0.22 balles).

Novērojumi beigti 18 nedēļas pēc inokulācijas, un tad visos variantos vītes intensitāte pārsniedza 2 balles, tas nozīmē, ka augi vai nu jau bija nokaltuši vai tuvojās bojā ejai. Datu analīze liecina, ka inokulācijas paņēmiena ietekme uz slimības attīstību šajā periodā samazinājusies. Lai gan variantu atšķirības vēl ir būtiskas, tomēr pārbaudāmā faktora loma samazinājusies ($F_{\text{fakt.}} = 2,35$, $F_{\text{teor.}} = 2,16$). Visaugstākā vītes intensitāte- 3,77 balles, variantos, kur inokulējot

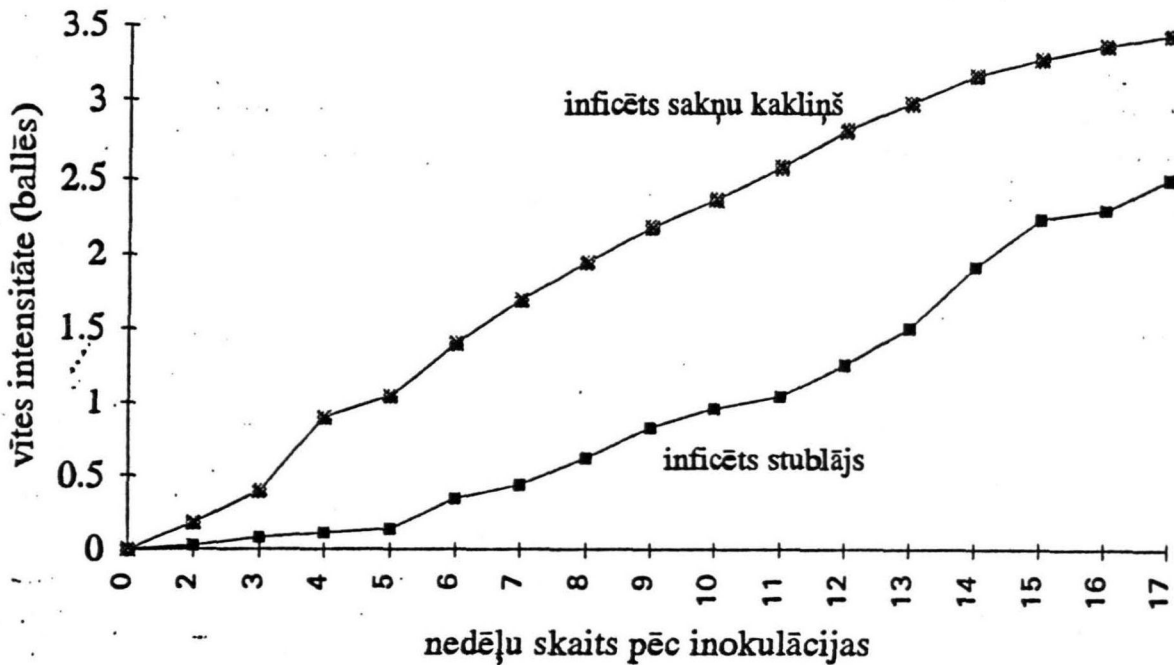
3.8. tabula
Fialoforās vītes intensitāte atkarībā no inficēšanas paņēmiena (ballēs)

Novērojumu datums	Dienu skaits pēc inokulācijas	γ	Inokulācijas paņēmieni							
			inokulācija veikta, augus ievainojot				inokulācija veikta, augus neievainojot			
			konīdiju suspensija uz sakņu kakliņa	micēlijs uz sakņu kakliņa	konīdiju suspensija uz stublāja	micēlijs uz stublāja	konīdiju suspensija uz sakņu kakliņa	micēlijs uz sakņu kakliņa	konīdiju suspensija uz stublāja	micēlijs uz stublāja
06.04	18	0.27	0.50	0.16	0.05	0.05	0	0.05	0	0
13.04	25		1.00	0.44		0.22	0	0.16	0	0
20.04	32		2.15	1.00	0.22	0.22	0.11	0.33	0	0
27.04	39		2.27	1.33	0.27	0.22	0.11	0.50	0.05	0
04.05	46		2.83	1.77	0.72	0.55	0.33	0.66	0.11	0
11.05	52	0.67	3.27	2.11	0.77	0.88	0.61	0.77	0.11	0
18.05	59		3.44	2.61	1.16	1.27	0.72	1.00	0.11	0
25.05	66		3.44	2.94	1.44	1.66	1.10	1.22	0.22	0
01.06	73		3.55	3.22	1.55	1.94	1.33	1.33	0.33	0
08.06	80		3.77	3.50	1.55	2.00	1.61	1.38	0.66	0
15.06	87		3.77	3.55	1.77	2.38	1.88	2.00	0.88	0
22.06	94	1.27	3.77	3.55	2.22	2.55	2.16	2.38	1.00	0.22
29.06	101		3.77	3.55	2.33	2.77	2.66	2.66	1.16	1.38
06.07	108		3.77	3.55	2.44	3.11	3.00	2.77	1.66	1.72
13.07	115		3.77	3.66	2.44	3.11	3.16	2.83	1.72	1.88
20.07	122	1.17	3.77	3.77	2.50	3.11	3.22	2.94	2.05	2.30

ievainots sakņu kakliņš. Nedaudz zemāka, ja inokulācija veikta ar sēnes micēliju, ievainojot stublāju un variantā, kur inokulēts neļķes sakņu kakliņš, to neievainojot (slimības intensitāte attiecīgi 3,11 un 3,22 balles). Fialoforās vītes pazīmes mazāk intensīvas abos variantos, kur inokulācija veikta, stublāju neievainojot.

Tātad, inokulācijas paņēmieni būtiski ietekmē inkubācijas perioda garumu - tas svārstās no 14 līdz 94 dienām. Taču, pēc slimības pirmo pazīmju parādīšanās, tālākā tās attīstība norit ļoti strauji un 3-4 mēnešu laikā augi nokalst.

Analizējot atsevišķus inokulācijas variantus, jāsecina, ka inficēšanās iespējama gan caur augsni, gan neļķes stublāju. Pirmās pazīmes novērojamas 14 līdz 21 dienu laikā abos gadījumos. Tomēr, inficējot neļķes caur augsni, vītes intensitāte lielāka visā novērojumu periodā (sk. 3.11. att.).

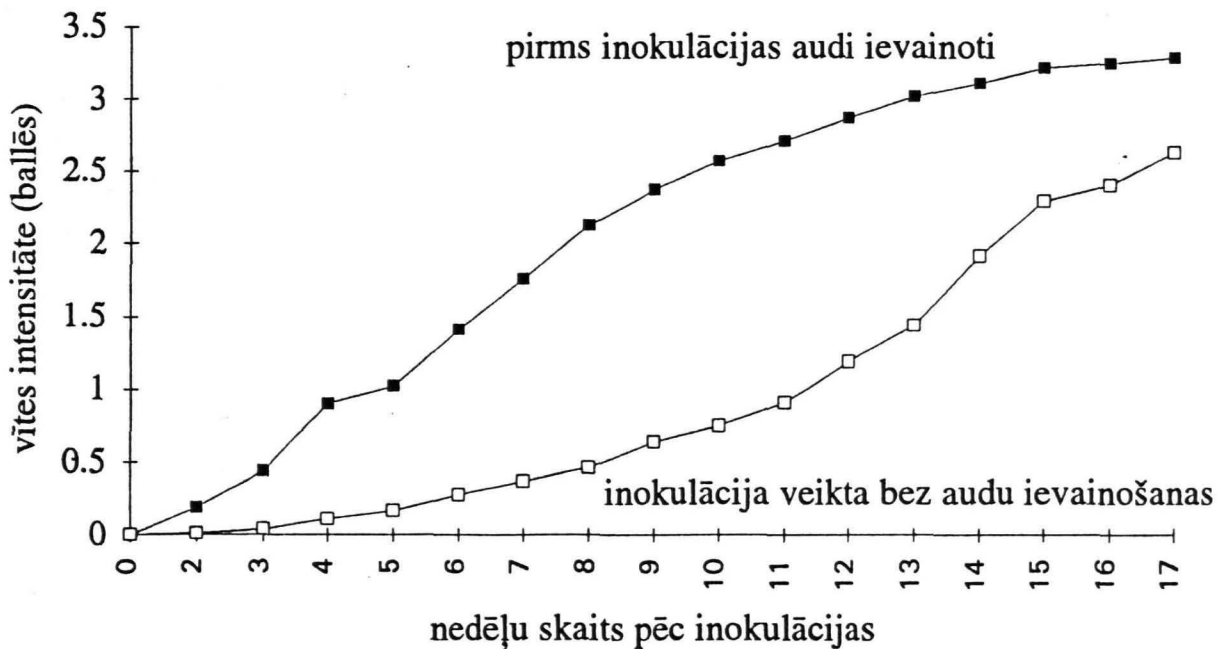


3.11. att. Fialoforās vītes attīstības dinamika atkarībā no inficēšanas vietas.

Ja patogēns iekļūst neļķu sakņu kakliņa rajonā, parasti sākumā inficējas viens, retāk vairāki dzinumi, taču patogēns ātri vien pārņem visu augu. Šajā gadījumā slimības intensitāte vienmērīgi palielinās visu novērojumu periodu. Turpretim, ja inficē neļķes stublāju, apmēram mēnesi vītes intensitāte nepalielinās, un slimības pazīmes novērojamas tikai uz inokulētā dzinuma, jo

patogēns ļoti lēnām iekļūst pārējās auga daļās. Pēc tam slimības intensitāte pieaug arvien straujāk un gandrīz sasniedz to pašu līmeni, kā variantos, kur inokulēts neļķu sakņu kakliņš. Tātad, lai gan inficēšanās var notikt arī caur stublāju, slimība ir bīstamāka, ja patogēns iekļuvis neļķu sakņu kakliņa rajonā. Jāzīmē, ka arī tad, ja inokulācija notiek caur stublāju, uz neļķu dzinumiem inficēšanās vietās nekrozes neveidojas, bet pirmās slimības pazīmes, tāpat kā citos gadījumos, ir turgora zudums lapās.

Izmēģinājumos konstatēts, ka *Phialophora cinerescens* ir izteikts parazīts, un tā spēj iekļūt augā arī caur nebojātām šūnām. Šajā gadījumā inkubācijas periods parasti ir garāks, pirmās vītes pazīmes novērojamas vidēji trīs nedēļas vēlāk nekā variantos, kur augi pirms inokulācijas ievainoti. Šajos variantos gandrīz trīs mēnešus slimības intensitāte palielinās daudz lēnāk, taču tad sākas strauja tās attīstība un novērojumu beigās arī šajos variantos sasniedz praktiski

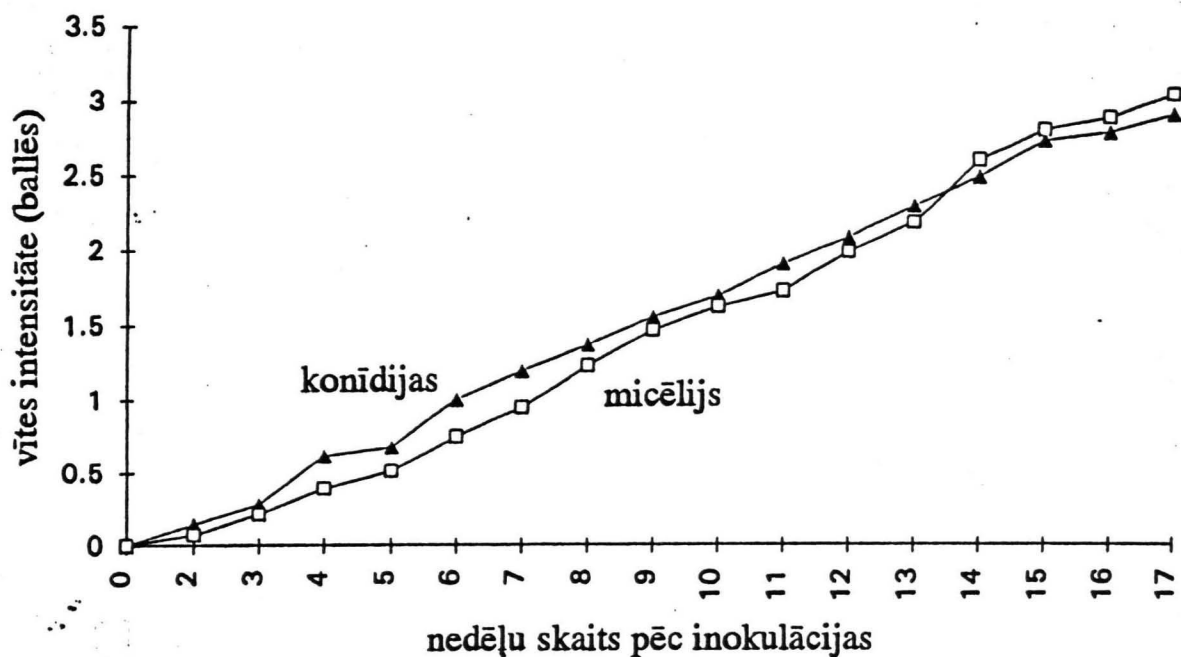


3.12. att. Fialoforās vītes attīstības dinamika atkarībā no inficēšanas paņēmiena (audi ievainoti vai arī ne)

to pašu līmeni kā variantos, kur pirms inficēšanas auga audi ievainoti (sk. 3.12. att.). Acīmredzot, lai gan ievainojumi veicina inficēšanos, tomēr patogēns spēj iekļūt arī caur veselām šūnām.

Neļķes inficējas gan ar *Phialophora cinerescens* micēliju, gan konīdijām. Tā kā konīdijas ātri izplatās pa neļķes vadaudiem, slimības intensitāte pirmajā laikā pēc inokulācijas ir nedaudz lielāka, ja inficēšanai izmantota konīdiju

suspensija (sk. 3.13. att.). Sēnes micēlijs aug lēni, pēc literatūras datiem 2 mm diennaktī, tādēļ pirmajos divos mēnešos slimības attīstība nedaudz lēnāka, taču pēc tam vadaudos veidojas konīdijas, kā tas konstatēts iepriekšējos izmēģinājumos, un slimības intensitāte krasi palielinās. Kopumā jāsecina, ka slimības norise abos gadījumos ir ļoti līdzīga, tātad *Phialophora cinerescens* vienlīdz sekmīgi spēj inficēt neļķes gan ar konīdijām, gan micēliju.



3.13. att. Fialoforās vītes attīstības dinamika atkarībā no infekcijas materiāla

Izmēģinājumu rezultāti liecina, ka fialoforās vītes profilakse ļoti sarežģīta, jo *Phialophora cinerescens* piemīt augsta agresivitāte un šī sēne spēj inficēt neļķes visdažādākajos veidos. Visātrāk neļķes inficējas, ja patogēns iekļūst augos sakņu kakliņa rajonā, lai gan inficēšanās var notikt arī caur stublājiem. Vītes strauju izplatīšanos veicina audu mehāniskie ievainojumi. Kā infekcijas materiāls var kalpot gan sēnes micēlijs, gan konīdijas.

3.5.2. *Phialophora cinerescens* saglabāšanās un izplatīšanās iespējas

Literatūrā ir ziņas par pētījumiem, kas veikti, lai noskaidrotu *Phialophora cinerescens* saglabāšanās iespējas. Ir dati, kas liecina, ka patogēns spēj saglabāties augu atliekās un augsnē, pat bez neļķu klātbūtnes (Nilsson, 1964).

Tomēr šādu izmēģinājumu ir ļoti maz, tādēļ mums likās interesanti un praktiski nozīmīgi pētīt, kādi ir galvenie inficēšanās avoti dabā. Bez šo jautājumu noskaidrošanas nav iedomājama efektīva fialoforās vītes profilakse.

Neļķes iestādītas augsnē, kurā iepriekš augušas ar *Phialophora cinerescens* inficētas neļķes. Augsne iepriekš rūpīgi izsijāta, lai atbrīvotos no neļķu atliekām. Otrajā variantā neļķes stādītas tīrā augsnē, kas iepriekš sajaukta ar nokaltušu augu atliekām, kuri aizgājuši bojā pēc inficēšanas ar *Phialophora cinerescens*.

Piecas nedēļas pēc iestādīšanas atsevišķiem spraudņiem novērotas pirmās pelēcīgi zaļās, turgoru zaudējušās lapas (sk. 3.9. tab.). Mēnesi vēlāk, spraudņiem, kas izstādīti augsnē ar slimo augu atliekām, tipiskas fialoforās vītes pazīmes. Pirmajā variantā vītes intensitāte nedaudz zemāka, tomēr, šajā laikā slimības simptomi vairāk vai mazāk novērojami visiem augiem. Turpmākajā laika periodā vītes intensitāte pakāpeniski pieaug abos variantos, lai gan slimība straujāk attīstās, ja neļķes izstādītas augsnē, kas sajaukta ar inficēto augu atliekām. Šajā variantā pirmie nokaltušie augi novēroti piecus mēnešus pēc iestādīšanas. Variantā, kurā inficēta bija augsne, neļķes aizgāja bojā dažas nedēļas vēlāk.

Galvenais *Phialophora cinerescens* infekcijas avots ir slimo augu atliekas. Taču, patogēns no inficētajiem augiem nokļūst arī augsnē un zināmu laiku, pēc literatūras datiem pat vairākus gadus, spēj saglabāt dzīvotspēju, kas nodrošina tālāku slimības izplatīšanos.

Neļķes audzējot, īpaša uzmanība jāpievērš augsnes dezinfekcijai vai nomaiņai un augu atlieku rūpīgai aizvākšanai. Principā visās siltumnīcās šie darbi tiek veikti, taču nepietiekami rūpīgi. Ja tiek pieļautas paviršības - tas ir; augsne pēc nomaiņas tiek izmantota citu kultūru audzēšanai turpat siltumnīcu tuvumā, augu atliekas izmestas kompostā, netiek ievērota tīrība, darbinieki staigā no vienas augu mājas uz otru - visi šie apstākļi ļauj *Phialophora cinerescens* saglabāties un inficēt jaunus neļķu stādījumus.

Literatūrā praktiski nav ziņu par pētījumiem, kas ļautu spriest par *Phialophora cinerescens* spēju pārvietoties no viena auga uz otru, tikai Nilsons (Nilsson, 1964) min, ka *Phialophora cinerescens* aug arī augsnē, un hifu garums palielinās par 2 mm diennaktī.

Lai novērotu, vai slimība izplatās no viena auga uz otru (tiem nesaskaroties) un novērtētu šī procesa nozīmi *Phialophora cinerescens* attīstībā un izplatībā neļķu stādījumos, iekārtots izmēģinājums. Šim nolūkam iepriekš inficēts spraudenis (inficēšana veikta ar dažādām metodēm) iestādīts starp

veseliem neļķu dēstiem un novērota vītes simptomu parādīšanās uz apkārtējiem augiem (sk. 3.10. tab.).

3.9. tabula

Neļķu fialoforās vītes attīstība, ja augi stādīti inficētā substrātā
(apsakņoti neļķu spraudēni stādīti 12.04.89)

Novērojumu datumi	Dienu skaits pēc stādīšanas	Vītes intensitāte (ballēs)	
		inficēta augsne	augšne sajaukta ar inficēto augu atliekām
10.05	29	0	0.1
17.05	36	0	0.1
23.05	43	0.2	0.5
30.05	50	0.2	0.5
07.06	57	0.3	0.6
14.06	64	0.5	0.8
21.06	71	0.5	1.0
28.06	78	0.7	1.1
05.07	85	0.8	1.2
12.07	92	1.0	1.2
19.07	99	1.0	1.3
26.07	106	1.5	1.8
03.08	113	1.6	2.0
10.08	120	1.8	2.3
17.08	127	2.0	2.6
24.08	134	2.0	2.6
30.08	141	2.2	2.8
07.09	148	2.3	3.0
14.09	155	2.5	3.1
21.09	162	2.8	3.1
28.09	169	3.0	3.2
05.10	176	3.0	3.4
12.10	183	3.0	3.4
19.10	190	3.1	3.6
26.10	197	3.1	3.8
03.10	204	3.5	4.0
10.11	211	3.5	4.0
17.11	218	3.8	4.0
24.11	225	4.0	4.0

Pirmajā izmēģinājuma variantā neļķu spraudenis inficēts, to 24 stundas mērcējot *Phialophora cinerescens* konīdiju suspensijā, un pēc tam saknes 6 stundas skalotas tekošā ūdenī.

3.10. tabula

Fialoforās vītes attīstības intensitāte inficētajam un apkārtējiem spraudējiem, ja inficēšana veikta, spraudēņa saknes mērcējot *Phialophora cinerescens* konīdiju suspensijā.

Novērojamais datums	Dienu skaits pēc inokulācijas	Vītes intensitāte (ballēs)			
		spraudenis inficēts, neievainojot sakņu kakliņu		spraudenis inficēts, ievainojot sakņu kakliņu	
		inficētajam spraudenim	apkārt esošajiem spraudējiem	inficētajam spraudenim	apkārt esošajiem spraudējiem
15.03	53	0.70	0	0	0
21.03	60	1.30	0.10	0.50	0
28.03	67	1.80	0.20	1.20	0.20
04.04	74	2.70	0.30	2.00	0.40
11.04	81	3.70	0.60	3.70	0.80
18.04	88	3.90	0.90	3.70	1.10
25.04	95	3.80	0.90	4.00	1.20
02.05	102	4.00	1.30	4.00	1.40
09.05	109	4.00	1.70	4.00	1.80
16.05	116	4.00	1.70	4.00	2.00
23.05	123	4.00	1.90	4.00	2.30
30.05	130	4.00	2.00	4.00	2.40

Inficētajam spraudenim izteiktas vītes pazīmes novērojamas apmēram 7 nedēļas pēc tā inokulēšanas un izstādīšanas (sk. 3.10. tab.). Šajā laikā apkārtējie dēsti vizuāli veseli. Nedēļu vēlāk novērojamas pirmās turgoru zaudējušās lapas dažiem apkārtējiem augiem, lai gan vēl grūti pateikt, vai turgora zuduma cēlonis tiešām ir *Phialophora cinerescens*. Tālāk notiek pakāpeniska vītes intensitātes palielināšanās gan inficētajam, gan apkārtējiem spraudējiem. Inficētais spraudenis galīgi sakaltis pēc aptuveni 14 nedēļām, bet apkārtējiem augiem vērojamas nepārprotamas, izteiktas fialoforās vītes pazīmes. Apmēram mēnesi vēlāk, apkārtējie augi gandrīz nokaltuši, dzīvi tikai atsevišķi dzinumi, tātad galīga bojā eja vairs nav aizkavējama (sk. 3.11. att.). Salīdzinot ar visiem iepriekš veiktajiem pētījumiem, šajā gadījumā auga nokalšana notikusi neparasti

ātri. Acīmredzot, jaunās neļķes ir jūtīgākas pret *Phialophora cinerescens*, un slimības process norisinās intensīvāk.



3.11. att. Fialoforās vītes izplatīšanās neļķu stādījumos: centrā - mākslīgi inokulētais stāds aizgājis bojā, apkārtējiem - pirmās fialoforās vītes pazīmes (3 mēnešus pēc stādīšanas)

Ļoti līdzīgi rezultāti iegūti 2. izmēģinājumu variantā, kurā neļķes spraudņa sakņu kakliņš, pirms mērcēšanas konīdiju suspensijā, ievainots (sk. 3.10. tab.).

Kā redzams, abos gadījumos, slimības pazīmes parādās gandrīz vienlaicīgi gan inficētajam, gan apkārt esošajiem spraudņiem. Ja neļķes inficēšanās notikusi caur saknēm, tad mehāniskajiem ievainojumiem nav nozīmes, inkubācijas periodu un slimības intensitāti tas neietekmē. Acīmredzot, rēta inficētās neļķes sakņu kakliņā neveicina patogēna pārvietošanās no auga uz augsni, jo apkārt esošie augi saslimst gandrīz vienlaicīgi.

Pēc būtības līdzīgus rezultātus iegūst, inokulējot spraudeni stublājā, tikai vītes pazīmes parādās ievērojami vēlāk (sk. 3.11. tab.).

3.11. tabula

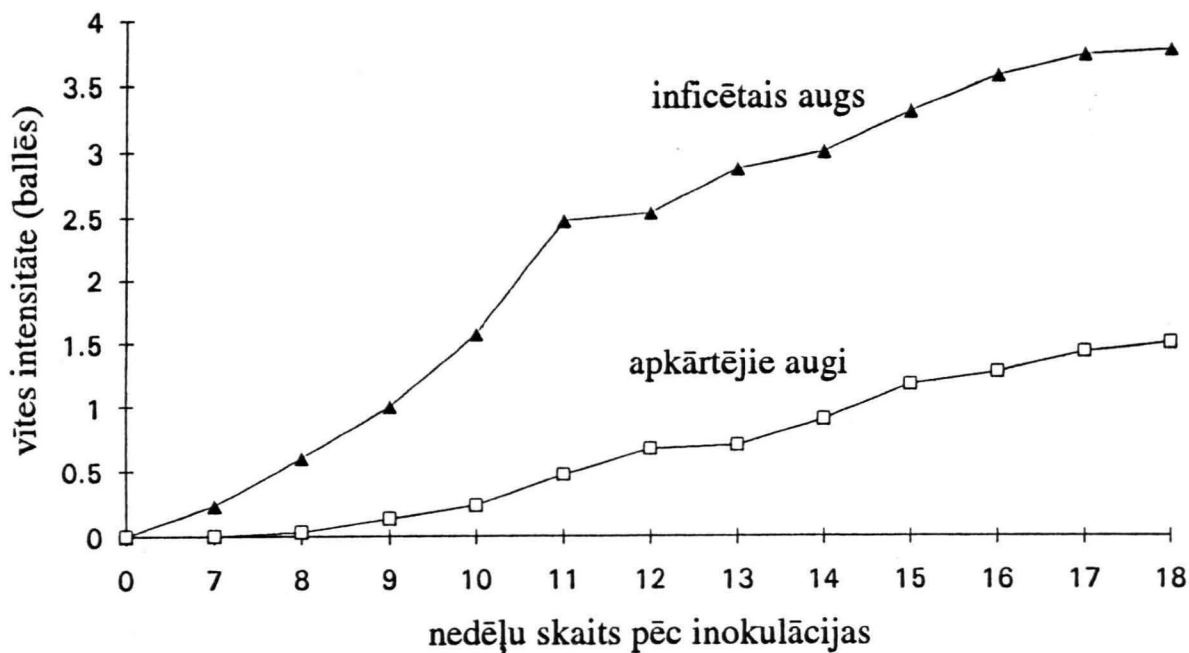
Fialoforās vītes intensitāte inficētajam un apkārtējiem augiem, ja inficēts dēsta stublājs.

Novēro- -jumu datums	Dienu skaits pēc inficē- šanas	Vītes intensitāte (ballēs)	
		inficētajam dēstam	apkārtējiem dēstiem
25.04	53	0.80	0
02.05	60	1.00	0
09.05	67	2.00	0
16.05	74	2.70	0.10
23.05	81	3.20	0.10
30.05	88	3.30	0.10

Inficētajam spraudenim divus mēnešus pēc inokulācijas novērojamas tipiskas vītes pazīmes; stublāja vienā pusē lapas mainījušas krāsu un zaudējušas turgoru. Tālākā slimības attīstība norisinās samērā strauji, un apmēram triju mēnešu laikā inficētais spraudenis aizgājis bojā. Šajā laikā praktiski visi apkārtējie dēsti inficējušies ar vīti, par ko liecina neapšaubāmas fialoforas pazīmes, lai gan slimības intensitāte nav augsta. Tomēr, kā rāda iepriekšējā pieredze, pēc pirmo simptomu parādīšanās augu galīga novīšana vairs nav novēršama un tas ir tikai laika jautājums.

Fialoforās vītes attīstības dinamika nedaudz atšķirās atkarībā no inokulēšanas metodikas, taču galvenā tendence izsekojama visos izmēģinājuma variantos. Ja neļķu stādījumos ir viens inficēts augs, neizbēgami inficēsies apkārtējie, turklāt šī inficēšanās notiek ļoti ātri, lai gan ne augu lapas, ne saknes nesaskaras. Vidēji divus mēnešus pēc inokulētā dēsta iestādīšanas fialoforās vītes pazīmes sāk parādīties uz apkārtējiem augiem. Inficētajā dēstā *Phialophora cinerescens* attīstās ļoti strauji, apkārtējos augos slimības intensitāte palielinās ļoti lēni, taču nepārtraukti (sk. 3.12. att.). Vidēji četrus mēnešus pēc iestādīšanas inficētais augs aizgājis bojā, bet, visiem apkārtējiem - tipiskas vītes pazīmes.

Protams, šie izmēģinājumi nedod tiešu priekšstatu par *Phialophora cinerescens* izplatīšanos augsnē, un tomēr ļoti aptuveni var pieņemt, ka 25 cm (attālums no viena auga līdz otram) sēne pārvar 1 līdz 2 nedēļu laikā. Interesanti, ka reizēm pirmās vītes pazīmes neparādījās uz tieši blakus esošajiem augiem, saslimšana notika diezgan haotiski. Acīmredzot, *Phialophora cinerescens* pārvietošanos nosaka kaut kādi procesi augsnē, piemēram, ūdens plūsmas vai iespējams dažādu mikroorganismu darbība.



3.12. att. Fialoforās vītes attīstības intensitāte inficētajam un apkārtējiem neļķu dēstiem

Izmēģinājumi, kuros pētītas inficēšanās iespējas, pierāda, ka neļķu fialoforās vītes ierobežošanā galvenā uzmanība jāvelta slimības profilaksei. Galvenie infekcijas avoti ir augsne un inficēto augu atliekas. Pēc inficēšanās tālākā slimības attīstība norit ļoti strauji - jo patogēns viegli pārvietojas uz veselajiem augiem. *Phialophora cinerescens* pārvietošanās ātrumu nodrošina sēnes spēja inficēt jebkuras auga daļas arī tad, ja neļķes audi nav bojāti un potenciālā infekcijas materiāla daudzveidība - gan micēlijs, gan konīdijas.

3.6. *Phialophora cinerescens* diagnosticēšana ar luminiscences mikroskopu.

Augu slimību ierobežošanā panākumi gūstami tikai veicot visus nepieciešamos profilaktiskos pasākumus, kuros īpaša nozīme veselam stādāmajam materiālam. Šis jautājums ir diezgan sarežģīts. Vislielākā problēma, kā liecina mūsu novērojumi, ir patogēna pārvietošanās pa augu, ievērojami apsteidzot simptomu parādīšanos. Tādēļ no ārēji veselām mātesaugiem tiek iegūti inficēti spraudņi. Pašlaik vienīgā vītes diagnostikas iespēja ir patogēna izolācija tīrkultūrā. Tomēr šī metode nedod pietiekami labus rezultātus, jo, kā norādīts iepriekš, *Phialophora cinerescens* uz mākslīgajām barotnēm attīstās salīdzinoši slikti, un tādēļ rezultātus var iegūt tikai pēc divām - trijām nedēļām,

bez tam šī metode ir ļoti darbietilpīga. Tādēļ īpaši svarīgs uzdevums - izstrādāt pietiekami precīzu metodi fialoforās vītes diagnosticēšanai.

Literatūrā uzkrāts pietiekami daudz ziņu par luminiscences mikroskopa izmantošanas iespējām augu slimību diagnostikā. Itāļu zinātnieki Bonifacio un Rumine izmantoja šo metodi arī *Phialophora cinerescens* konstatēšanai (Bonifacio, Rumine, 1984). Viņu lietotā metodika ir diezgan sarežģīta, ar to nav iespējams veikt sērijveida analīzes liela paraugu daudzumam. Tātad to nevar izmantot mātesaugu pārbaudei pirms spraudņu laišanas. Šī metode ir pārbaudīta tikai izmēģinājumos, diemžēl, nav iespējams spriest par tās precizitāti, jo paralēli netiek doti dati par patogēna izdalīšanu tīrkultūrā. Jāatzīmē, ka Augu un kukaiņu vīrusslimību problēmu laboratorijā pētījumi par luminiscences mikroskopa izmantošanas iespējām fialoforās vītes diagnosticēšanā bija uzsākti vēl pirms iepazīšanās ar minēto zinātnieku publikāciju. Pamatos mūsu izstrādātā metode ir līdzīga, tiek izmantoti tie paši principi, tikai tā ir vienkāršāka un piemērotāka ražošanas apstākļiem.

Metodes precizitāte un praktiskas izmantošanas iespējas pārbaudītas mākslīgi inficēto neļķu fonā, paralēli patogēnu reizolējot tīrkultūrā, pēc parastās metodikas.

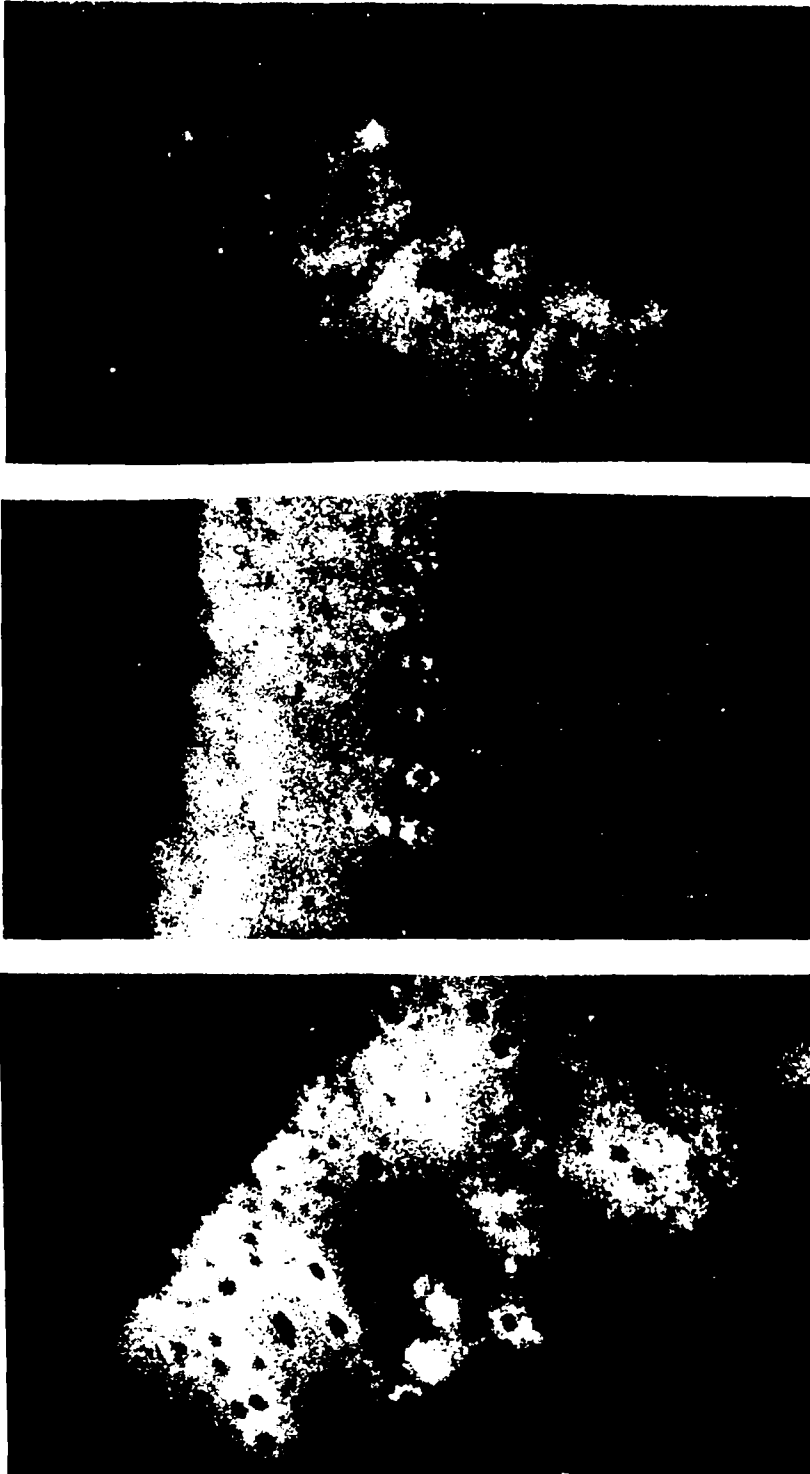
Pirmais darba uzdevums bija iespējami precīzi konstatēt tās atšķirības, kas novērojamas luminiscences mikroskopā, apskatot inficētu un veselu neļķu stublājus.

Sākumā salīdzināti veselu un stipri inficētu neļķu stublāju šķēsgriezumi. Paraugi apskatīti luminiscences mikroskopā JIM-2 ultravioletajā gaismā, izmantojot gaismas filtrus ΦC 1-2 un C3C 14-4 (sk. 2.5. nod.). Galvenā uzmanība pievērsta stublāja koksnes daļai, jo patogēns attīstās ksilēmā (sk. 3.2. nod.). Veselu (tas ir, neinficētu) augu ksilēma mikroskopā luminiscē ar vienmērīgu, zaļu gaismu, šī krāsa ir vienmērīgi intensīva visā vadaudu gredzenā (sk. 3.13. att.).

Stipri inficētu stublāju griezumos (audu nekrotizēšanās brūnu joslu vai punktu veidā novērojama jau bez mikroskopa), bojātie audi tumši vai gaišāk brūni, bet bez spīduma. Apkārt šiem blāvi brūnajiem plankumiem audi mirguļo spilgti dzeltenī zaļā gaismā.

Inficētu neļķu ksilēmā (kamēr vadaudu gredzena destrukcija un nekrotizēšanās vizuāli vēl nav redzama) atsevišķos gadījumos ir novērojami zaļgani dzeltenī mirguļojoši laukumi. Atkarībā no infekcijas attīstības pakāpes, novērojami izplūduši spīdoši dzeltenī zaļi laukumi vai arī tikai atsevišķi mirdzoši punkti. Literatūrā sastopamās ziņas par *Phialophora cinerescens* vielmaiņu ļauj secināt, ka šajos gadījumos luminiscē toksīni, ko izdala sēne, jo patogēns mikroskopā nav saskatāms, un koksnes audi vēl nav bojāti. Šie novērojumi ļauj secināt, ka sēne var tikt konstatēta infekcijas sākumā.

Tika pārbaudīti arī augi, kas mākslīgi inficēti ar *Fusarium oxysporum*.



3.13. att. *Phialophora cinerescens* diagnostika luminiscences mikroskopā: 1- vesela koksne mirgo vienmērīgā zaļā krāsā, 2- inficētajos audos novērojami atsevišķi dzelteni, spīdoši punkti un laukumi, 3- nekrotizētie audi brūni, apkārt tiem dzelteni, spīdoši laukumi

Diemžēl jāsecina, ka šī metode nav specifiska, jo šajā gadījumā mikroskopā bija novērojama tāda pati aina kā tad, ja neļķes inficētas ar *Phialophora cinerescens*.

Lai konstatētu luminiscences metodes varbūtējo pielietojamas efektivitāti, bija jānoskaidro, kurā fialoforās vītes attīstības stadijā iespējama tās konstatēšana. Šajā nolūkā no mākslīgi inokulētām neļķēm ik pēc septiņām dienām ņemti paraugi un apskatīti luminiscences mikroskopā, paralēli patogēnu reizolējot tīrkultūrā.

Septiņas dienas pēc inokulācijas vizuāli slimības simptomi nav novērojami. Reizolējot sēni uz mākslīgajām barotnēm, tikai atsevišķos gadījumos izdevās pierādīt *Phialophora cinerescens* klātbūtni neļķēs. Luminiscences mikroskopā raksturīgā mirdzošā zaļgani dzeltenā gaisma tāpat novērojama tikai dažos griezumos. Respektīvi, šai slimības attīstības stadijā ar pārbaudītajām metodēm patogēnu droši diagnosticēt nevar. Līdzīgi rezultāti iegūti arī 14 un 21 dienas pēc inokulācijas.

Tikai 28 dienas pēc inokulācijas *Phialophora cinerescens* neļķu stublājos, konstatēta 25 cm augstumā ar abām metodēm. Šajā laikā vizuālie slimības simptomi vēl diezgan nenoteikti, tos var novērot tikai atsevišķiem augiem. Rezultāti, kas iegūti, diagnosticējot fialoforo neļķu vīti ar abām metodēm, praktiski sakrīt (sk. 3.12. tab.).

Vēlākā slimības attīstības stadijā sēnes diagnosticēšanai izmantot luminiscences mikroskopu vairs nav nozīmes, jo pazīmes novērojamas arī vizuāli.

3.12. tabula

Phialophora cinerescens diagnostika ar luminiscences un bioloģisko metodi
(% no pārbaudītajiem paraugiem)

Dienas pēc inokulācijas	Konstatēta patogēna klātbūtne	
	reizolācija uz barotnes	luminiscences mikroskopā
7	16	10
14	20	14
21	28	39
28	89	73
35	89	97

Cenšoties panākt lielāku metodes stabilitāti, izmēģinātas 17 fluorescējošas krāsvielas. Taču sekundārā luminiscence nav efektīva, un krāsotajos preparātos patogēna klātbūtni nevar konstatēt ātrāk kā izmantojot nekrāsotus, tādēļ sekundārā luminiscence tālākos pētījumos netika lietota.

Luminiscences mikroskopiju var izmantot fialoforās vītes diagnostikā. Šī metode ir pietiekami precīza, jo iegūtos rezultātus apstiprina patogēna

reizolācija tīrkultūrā. Salīdzinot ar bioloģisko, šai metodei ir dažas priekšrocības, jo tā ir vienkāršāka un mazāk darbietilpīga (nav nepieciešama trauku sterilizācija, barotnes vārīšana). Bioloģiskajai metodei arī ir savas priekšrocības, jo iespējams precīzi identificēt patogēnu, ko nevar luminiscences mikroskopā.

Tomēr jāatzīmē, ka problēma ne tuvu nav atrisināta, jo arī ar luminescences mikroskopu nevar konstatēt *Phialophora cinerescens* slimības pašā attīstības sākumā. Acīmredzot, *Phialophora cinerescens* diagnostikai agrā attīstības stadijā nepieciešams meklēt pilnīgi jaunas, oriģinālas metodes, jo līdz šim tradicionālie sēņu diagnostikas paņēmieni nedod pietiekami labus rezultātus.

3.7. Antagonistu pielietošanas iespējas neļķu fialoforās vītes ierobežošanā

Daudzi ļoti nozīmīgi augu patogēni dzīvo vai vismaz saglabājas augsnē, tas attiecas arī uz traheomikožu izraisītājiem. Šo patogēnu ierobežošana diezgan problemātiska. Parasti pirms neļķu stādīšanas tiek veikta augsnes termiskā dezinfekcija, taču šajā gadījumā aiziet bojā visa substrāta mikroflora, kā rezultātā, ja patogēns iekļūst šādā augsnē, tas ļoti ātri izplatās, jo to netraucē citi mikroorganismi. Izmēģinājumi visā pasaulē liecina, ka *Fusarium oxysporum* un *Phialophora cinerescens* apkarošanā fungicīdi mazefektīvi (Салов, 1980).

Pēdējos gados veikts ļoti daudz pētījumu, lai šo patogēnu ierobežošanai varētu izmantot bioloģiskos augu aizsardzības līdzekļus - un galvenokārt - mikroorganismus, patogēnu antagonistus. Šo interesi nosaka rūpes par dabas pārlietu nepiesārņošanu un nepieciešamība atrast jaunus, efektīvus līdzekļus traheomikožu ierobežošanai.

Ir izdalīti ļoti daudzi *Fusarium oxysporum* antagonisti, gan sēnes, gan baktērijas. Daļu no tiem sāk pielietot ražojošās siltumnīcās. Attiecībā par *Phialophora cinerescens* šādu izmēģinājumu ir ļoti maz.

Latvijas ZA Mikrobioloģijas zinātnieki Daces Pavlovičas vadībā izolēja no dabiskām trūdvielām bagātām augsnēm dažādu grupu mikroorganismus, kas tika pārbaudīti laboratorijas apstākļos un atlasīti aktīvi *Phialophora cinerescens* antagonisti. Šo mikroorganismu antagonisms pārbaudīts audzējot tos mākslīgajās barotnēs kopā ar *Phialophora cinerescens*.

Taču rezultātus, kas iegūti laboratorijā, nevar tieši attiecināt uz ražošanas apstākļiem. Kā atzīmēts daudzu zinātnieku darbos - ļoti sarežģīts ir otrs antagonistu pārbaudes posms - veģetācijas izmēģinājumi. Ļoti grūti panākt, lai antagonisti, kas bijuši efektīvi laboratorijā (parasti uz mākslīgajām barotnēm), spētu ierobežot patogēnus reālā substrātā. Šajā gadījumā antagonistu darbības efektivitāti ietekmē mikroklimats substrātā, neļķu klātbūtne, kūdras mikroflora

un mikroorganismu populāciju blīvums un kvantitatīvās attiecības, kas veidojas pēc antagonistu ievadīšanas augsnē.

Mūsu izmēģinājumu mērķis bija pārbaudīt antagonistu efektivitāti *Phialophora cinerescens* ierobežošanā. Bet pirmais uzdevums - atrast piemērotu metodiku antagonistu efektivitātes salīdzināšanai, jo literatūrā ieteiktās metodes ir pretrunīgas, grūti savstarpēji salīdzināmas un bieži pārāk sarežģītas praktiskai lietošanai.

Pirmajā izmēģinājumu sērijā pārbaudītas piecas baktērijas, aktinomicēte, divi *Trichoderma lignorum* celmi un antagonistu komplekss (sk. 2.5. nod.), variējot inokulācijas metodiku. Kontroles variantā inokulācija veikta tikai ar *Phialophora cinerescens*.

Pirmajā variantu grupā mēnesi pēc neļķu iestādīšanas augsnē (tieši neļķu sakņu kakliņa rajonā) ievadīti antagonisti un 3-12 dienas vēlāk *Phialophora cinerescens*. Laiku starp antagonistu un patogēna ievadīšanu ieteica Mikrobioloģijas Institūta speciālisti, vadoties no katra konkrētā mikroorganisma vairošanās ātruma.

Antagonistu darbības efektivitāte novērtēta pēc fialoforās vītes intensitātes neļķu stādījumos (sk. 3.13. tab.).

3.13. tabula

Fialoforās neļķu vītes intensitātes dinamika (ballēs), atkarībā no augsnē ievadītajiem antagonistiem, ja antagonisti ievadīti augsnē pirms tās inokulācijas ar *Phialophora cinerescens*

Pielietotie antagonisti	Nedēļas pēc inokulācijas					
	5	6	7	8	9	10
Kontrole	0.6	0.9	1.8	2.8	3.5	4.0
T 847	0.4	0.8	1.2	1.8	2.6	3.2
T 853	0.2	0.5	1.5	1.8	2.6	3.2
B 246	0.4	1.0	2.0	3.1	3.6	3.8
B 187	0.7	1.3	2.1	2.8	3.6	3.7
A 1835	0.1	0.5	0.7	1.6	2.6	3.2
B 270	0.3	0.8	1.0	2.6	3.5	3.8
B 177	0.5	0.8	2.1	3.2	3.5	4.0
T 847+B 246+A	0.4	0.6	1.3	1.4	1.9	2.7
	-	-	-	$\gamma = 0.9$	$\gamma = 0.7$	$\gamma = 0.6$

Šajā izmēģinājumu grupā pirmie fialoforās vītes simptomi uz atsevišķiem augiem parādās gandrīz vienlaicīgi visos, tajā skaitā arī kontroles, variantos. Vērtējot slimības intensitāti vizuāli, novērojamas nelielas atšķirības. Visvairāk saslimušu augu kontroles variantā un variantā, kur augsnē ievadīta B 187, bet

vismazāk- ja izmantota kultūra A 1835. Tomēr datu matemātiskā apstrāde liecina, ka šajā periodā atšķirības starp variantiem nav būtiskas ($F_{\text{fakt.}} < F_{\text{teor.}}$). Tātad pamanītās atšķirības vītes intensitātē ir nejaušību un kļūdu robežās. Acīmredzot, ja augsnē ir pietiekamas patogēna rezerves un daudz maz labvēlīgi inficēšanās apstākļi (jāatzīmē, ka siltumnīcās tādi ir gandrīz vienmēr, jo *Phialophora cinerescens* optimālie attīstības nosacījumi, atšķirībā no citiem patogēniem, sakrīt ar neļķu augšanas optimumu), pārbaudītie antagonisti nespēj aizkavēt inficēšanos ar *Phialophora cinerescens*.

Novērojumus turpinot, vītes intensitāte pakāpeniski pieaug visos variantos un vēl kādu laiku konstatētās atšķirības slimības intensitātē nav būtiskas. Tomēr trīs nedēļas pēc pirmo vītes pazīmju novērošanas (vai astoņas nedēļas pēc inokulācijas ar *Phialophora cinerescens*) jau novērojamas būtiskas atšķirības slimības intensitātē. Mazākā būtiskā starpība - 0,9 balles, tātad dažādi varianti savstarpēji būtiski atšķiras. Inokulācija ar kultūrām A 1835, abiem *Trichoderma lignorum* celmiem un T 847+B 246+A aizkavējuši fialoforās vītes attīstību. Arī pārējos variantos vizuāli novērojamas nelielas atšķirības slimības intensitātē, tomēr tās nav būtiskas.

Dažas nedēļas vērojama līdzīga tendence, iepriekš minētie antagonisti nedaudz aizkavē fialoforās vītes attīstību salīdzinājumā ar kontroli. Visefektīvāk darbojas antagonistu komplekss (kontroles variantā vītes intensitāte 3,5 balles, bet iepriekšminētajā variantā tikai 1,9 balles).

Tomēr, apmēram divus-trīs mēnešus pēc augu inokulācijas ar *Phialophora cinerescens*, augi strauji vīst un nokalst visos variantos. Acīmredzot, šajā laikā antagonistu darbība jau ir izbeigusies. D. Pavlovičas pētījumi liecina, ka pielietotie mikroorganismi nespēj iedzīvoties kūdrā, to skaits sāk samazināties un tālākā *Phialophora cinerescens* attīstība netiek kavēta.

Tātad, ja antagonistus ievada augsnē pirms neļķu inficēšanas ar *Phialophora cinerescens*, tie zināmu laiku spēj aizkavēt *Phialophora cinerescens* attīstību. Salīdzinoši efektīvi darbojas antagonistu komplekss, kā arī T 847, T 853 un A 1835. Šie mikroorganismi neiznīcina *Phialophora cinerescens*, bet zināmā mērā ierobežo tās attīstību, un tādēļ, antagonistu pielietošana ir efektīva tikai īsu periodu.

Otrajā variantu grupā izmantoti tie paši antagonisti, bet mainīts inokulācijas paņēmiens. Augsnē vispirms ievadīta *Phialophora cinerescens* un pēc nedēļas- antagonisti.

Šajā variantu grupā inficēšanās notika lēnāk, šis fakts grūti izskaidrojams, jo principā lietota tāda pati inokulēšanas metodika kā iepriekšējā variantu grupā. Piecas nedēļas pēc augsnes inokulācijas ar *Phialophora cinerescens* novērotas pirmās fialoforās vītes pazīmes. Datu matemātiskā apstrāde liecina, ka atšķirības starp variantiem ticamas. Izteiktas vītes pazīmes tikai vienā variantā, kur augsnē ievadīta aktinomicēte. Atšķirības starp pārējiem variantiem, tai skaitā arī kontroli, nav būtiskas. Šobrīd uzkrāts pārāk maz zināšanu, lai visos

gadījumos varētu izskaidrot mikroorganismu savstarpējās attiecības. Katrā ziņā starp *Phialophora cinerescens* un aktinomicēti ir zināma mijiedarbība un tā izpaužas dažādi - vai nu patogēna attīstība aktinomicētes darbības rezultātā tiek kavēta (kā iepriekšējā variantu grupā) vai - tieši otrādi - stimulēta. Iespējams, ja *Phialophora cinerescens* jau paguvusi neļķes inficēt, tad aktinomicētes klātbūtne palielina tās agresivitāti.

3.14. tabula

Neļķu fialoforās vītes intensitātes dinamika atkarībā no antagonistu darbības (ballēs), ja augsnē vispirms ievadīta *Phialophora cinerescens*, tad - antagonisti

Pielietotie antagonisti	Nedēļas pēc inokulācijas					
	5	6	7	8	9	10
Kontrole	0.1	0.1	0.2	0.2	1.1	1.5
T 847	0	0	0.1	0.8	1.2	2.7
T 853	0	0	0	0.3	0.8	2.2
B 246	0	0	0	0.2	0.7	1.6
B 187	0	0	0	0	0	0.8
A 1835	0.4	0.5	1.3	2.2	2.6	3.5
B 270	0	0	0	0.1	0.2	0.6
B 177	0	0.2	0.3	0.8	1.0	2.2
T 847+B 246+A	0.1	0.2	0.5	0.9	1.2	2.2
	$\gamma = 0.2$	$\gamma = 0.2$	$\gamma = 0.4$	$\gamma = 0.6$	$\gamma = 0.7$	$\gamma = 0.8$

Astoņas nedēļas pēc inokulācijas vairāk vai mazāk izteikti, bet tipiski vītes simptomi visos variantos, daudzos gadījumos slimības intensitāte augstāka variantos, kur lietoti antagonisti. Salīdzinot ar kontroli, vītes intensitāte zemāka variantos, kur augsnē ievadītas B 187 un B 270 (iepriekšējā variantu grupā tieši šo baktēriju lietošana nebija efektīva). Tomēr nevar apgalvot, ka šīs baktērijas ierobežo *Phialophora cinerescens* darbību, jo atšķirības vītes intensitātē dažādos variantos nepārsniedz robežstarpību ($\gamma = 0,6$).

Desmit nedēļas pēc inokulācijas visos variantos izteiktas vītes pazīmes - augi novītuši, sāk dzeltēt. Baktēriju kultūras B 187 un B 270 būtiski aizkavējušas fialoforās vītes attīstību. Dažas nedēļas vēlāk atšķirības vītes intensitātē praktiski izlīdzinās un augi nokalst visos variantos.

Tātad, ja antagonisti tiek ievadīti augsnē, kas jau inficēta ar *Phialophora cinerescens*, visbiežāk tie nespēj aizkavēt slimības attīstību, dažos gadījumos pat to veicina.

Trešajā variantu grupā mēģināts noskaidrot, kas notiek, ja zināmu laiku mikroorganismu savstarpējo mijiedarbību neietekmē augu klātbūtne (sk. 3.15. tab.).

3.15. tabula

Neļķu fialoforās vītes intensitātes dinamika atkarībā no antagonistu darbības (ballēs), ja augsnē vispirms ievadīta *Phialophora cinerescens*, pēc nedēļas antagonisti un vēl pēc divām nedēļām stādītas neļķes

Pielietotie anagonisti	Nedēļas pēc neļķu iestādīšanas					
	5	6	7	8	9	10
Kontrole	0	0	0	0.3	0.6	1.4
T 847	0	0.1	0.4	0.8	1.4	2.1
T 853	0.3	0.3	0.7	1.3	1.8	3.1
B 246	0	0	0.1	0.6	1.3	2.1
B 187	0	0	0.2	0.4	0.8	2.0
A 1835	0	0	0	0	0.2	0.6
B 270	0.1	0.1	0.3	0.6	0.8	1.4
B 177	0	0	0	0.2	0.3	0.5
T 847+B 246+A	0.1	0.2	0.5	0.9	1.2	2.2
	$\gamma = 0,1$	$\gamma = 0,2$	$\gamma = 0,2$	$\gamma = 0,3$	$\gamma = 0,4$	$\gamma = 0,8$

Šajā izmēģinājumu variantā grūti objektīvi novērtēt antagonistu darbības efektivitāti attiecībā pret *Phialophora cinerescens*, jo inficēšanās notika salīdzinoši lēnāk. Šķiet, vajadzīgs zināms laika periods pēc neļķu iestādīšanas, līdz patogēns nokļūst tiešā augu tuvumā.

Piecas nedēļas pēc augu iestādīšanas inficētā augsnē variantos, kur ievadītas B 270, T 853 un antagonistu komplekss, novērotas pirmās fialoforās vītes pazīmes, lai gan kontroles variantā slimības simptomu nav.

Astoņas nedēļas pēc neļķu iestādīšanas kontroles variantā novērojami pirmie vītes simptomi. Arī visos pārējos variantos slimības pazīmes vairāk vai mazāk izteiktas. Vairumā gadījumu slimības intensitāte pat lielāka nekā kontrolē (T 847, T 853 un antagonistu komplekss).

Protams, izmēģinājumu ir pārāk maz, lai izdarītu kategoriskus secinājumus, tomēr, iegūtie rezultāti dod iespēju izvirzīt hipotēzes. Šķiet, pārbaudāmie antagonisti kūdras substrātā nespēj kaut cik ievērojami nomākt *Phialophora cinerescens*, ja augsnē tie nonāk vienlaicīgi, tādēļ pēc neļķu iestādīšanas notiek inficēšanās ar patogēnu, neskatoties uz antagonistu klātbūtni.

Šī tendence saglabājas visu novērojumu laiku, un vītes intensitāte pakāpeniski palielinās visos variantos, bet īpaši strauji, ja augsnē ievadīti *Trichoderma lignorum* un baktērijas B 246 un B 187. Salīdzinot ar kontroli, slimības intensitāte nedaudz zemāka variantos, kur augsne inokulēta ar aktinomicēti un B 177. Tomēr šie rezultāti nav pārlicinoši, jo atšķirības vītes intensitātē nepārsniedz mazāko būtisko starpību ($\gamma = 0,8$).

Kā redzams, iegūtie dati ir stipri pretrunīgi. Vieni un tie paši mikroorganismi, ar izteikti antagonistiskām īpašībām attiecībā pret *Phialophora cinerescens* (laboratorijas izmēģinājumi) ļoti dažādi ietekmē saslīmšanu ar fialoforo vīti veģetācijas traukos, atkarībā no antagonistu un patogēna inokulācijas paņēmiena. Vispretrunīgākie dati iegūti, novērtējot aktinomicēti. Vienā gadījumā tā salīdzinoši efektīvi kavē *Phialophora cinerescens* attīstību, citā veicina neļķu saslīmšanu. Šo parādību ļoti grūti patlaban izskaidrot, jo izmēģinājumu ir pārāk maz. Var izteikt tikai hipotētisku pieņēmumu, ka tieši A 1835 ļoti aktīvi mijiedarbojas ar *Phialophora cinerescens*, un tādēļ iegūtie rezultāti ir krasi atšķirīgi atkarībā no izmēģinājumu metodikas. Pārējie lietotie mikroorganismi, iespējams, ir neitrālāki, vismaz kūdras substrātā, tādēļ to ietekme nav tik krasi novērojama. Īpaša uzmanība pievēršama baktērijām-B 177 un B 270, kas atsevišķos gadījumos aizkavēja inficēšanos ar *Phialophora cinerescens*.

Izvērtējot izmēģinājumu rezultātus, jāsecina, ka jāmaina metodika. Lai līdzsvarotu patogēna un antagonistu populāciju blīvumu augsnē, *Phialophora cinerescens* deva samazināta, vadoties pēc Mikrobioloģijas institūta speciālistu ieteikuma. Pirmajā izmēģinājumu sērijā iegūtie rezultāti bija nepārlicieņi, un tādēļ turpmākiem pētījumiem atstātas visas iepriekš pārbaudītās baktērijas (viena iekļauta no jauna) un aktinomicēte. Pārbaudītie *Trichoderma lignorum* celmi nebija sevišķi efektīvi, un tādēļ turpmākam darbam šīs sēnes atstātas tikai antagonistu kompleksos, jo iepriekšējā pieredze atļauj domāt, ka tieši kompleksu izmantošana varētu ierobežot *Phialophora cinerescens* attīstību.

Spriežot pēc pirmajiem rezultātiem, ja vispār antagonisti spēj ierobežot neļķu fialoforo vīti, tad tikai lietojot tos profilaktiski. Acīmredzami, ja inficēšanās jau ir notikusi, to vairs apstādināt nevar. Nākamajā izmēģinājumu sērijā vispirms inokulēta augsne, un tikai pēc tam stādītas neļķes. Inokulēšanas metodika variēta, lai pārbaudītu secinājumus, kas izdarīti pēc pirmās eksperimentu sērijas.

Pirmajā variantu grupā vispirms augsnē ievadīta *Phialophora cinerescens*, pēc nedēļas antagonisti un pēc divām nedēļām stādītas neļķes.

Šajā variantu grupā kontroles variantā pirmās vītes pazīmes novērotas astoņas nedēļas pēc spraudņu iestādīšanas (sk. 3.16. tab.).

Datu matemātiskās apstrādes rezultāti pierāda, ka atšķirības starp vītes intensitāti dažādos variantos ticamas (mazākā būtiskā starpība $\gamma=0.7$ balles). Inficēšanos ar *Phialophora cinerescens* būtiski aizkavēt nespēj neviens no pielietotajiem antagonistiem, bet daudzos gadījumos augsnes inokulācija ar antagonistiskajiem mikroorganismiem veicina inficēšanos ar *Phialophora cinerescens*.

Šīs tendences saglabājas visu novērojumu periodu, fialoforās vītes intensitāte nedaudz mazāka variantos, kur pielietota B 131, B 246. Tomēr atšķirības vītes intensitātē arī šajos variantos nepārsniedz mazāko būtisko

starpību. Antagonistu kompleksa un aktinomicētes klātbūtnē slimības pakāpe ievērojami augstāka. Tomēr vēl pēc dažiem mēnešiem slimības intensitāte gandrīz izlīdzinājās un praktiski visi augi nokalta.

3.16. tabula

Fialoforās vītes intensitātes dinamika atkarībā no pielietotajiem antagonistiem (ballēs), ja augsnē ievadīta *Phialophora cinerescens*, pēc nedēļas - antagonistu un pēc divām nedēļām stādītas neļķes

Pielietotie antagonistu	Nedēļas pēc inokulācijas					
	8	9	10	11	12	13
Kontrole	0.2	0.2	0.6	1.2	1.2	1.2
B 177	0.3	0.7	1.0	1.2	1.2	1.2
B 187	0.1	0.1	0.3	0.7	0.7	0.7
B 246	0	0	0	0.2	0.2	0.3
B 270	0.2	0.2	0.4	1.0	1.0	1.0
A 1835	0.8	1.1	1.4	2.0	2.0	2.0
T+B 246+B 270	1.8	2.2	2.8	3.0	3.0	3.0
T+B 187	0.4	0.6	0.8	1.0	1.0	1.2
B 131	0.2	0.2	0.2	0.4	0.4	0.6
	$\gamma = 0,7$	$\gamma = 0,8$	$\gamma = 1,0$	$\gamma = 1,1$	$\gamma = 1,3$	$\gamma = 1,2$

Veiktie izmēģinājumi vēlreiz apstiprina secinājumu, ka antagonistu lietošana var būt efektīva tikai tad, ja tie nokļūst augsnē pirms patogēna.

Otrajā variantu grupā antagonistu un *Phialophora cinerescens* augsnē tika ievadīti reizē. Kontroles variantā divus mēnešus pēc neļķu iestādīšanas tipiskas vītes pazīmes (sk. 3.17. tab.). Visos pārējos - vai nu fialoforas simptomi nebija novērojami, vai arī to intensitāte bija ievērojami zemāka nekā kontrolē.

Novērojumus turpinot, atšķirības vītes intensitātē dažādos variantos kļuva aizvien krasākas. Gandrīz visi pielietotie antagonistu ietekmē *Phialophora cinerescens* attīstību un novērojumu laikā šajos variantos vītes intensitāte būtiski zemāka. Novērojumus beidzot, tikai vienā variantā, kur augsnē ievadīta B 270, vītes intensitāte bija tāda pati kā kontroles variantā. Visos pārējos gadījumos pārbaudāmie antagonistu salīdzinoši efektīvi aizkavēja neļķu fialoforās vītes attīstību.

3.17. tabula

Fialoforās vītes intensitātes dinamika atkarībā no antagonistu darbības (ballēs), ja augsne vienlaicīgi inokulēta ar patogēnu un antagonistiem, pēc nedēļas stādītas neļķes

Pielietotie antagonisti	Nedēļas pēc inokulācijas					
	8	9	10	11	12	13
Kontrole	1.0	1.1	2.0	2.0	2.0	2.0
B 177	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
B 187	0	0	0	0	0	0
B 246	0	0	0	0	0	0
B 270	0.3	0.6	0.6	2.0	2.0	2.0
A 1835	0.2	0.2	0.4	0.6	0.6	0.6
T+B 246+B 270	0	0	0.2	0.2	0.2	0.2
T+B 187	0	0	0.2	0.2	0.2	0.2
B 131	0	0	0.2	0.2	0.2	0.2
	$\gamma = 0,4$	$\gamma = 0,5$	$\gamma = 0,7$	$\gamma = 0,7$	$\gamma = 0,8$	$\gamma = 0,8$

Trešajā variantu grupā augsnē vispirms ievadīti antagonisti, pēc 3-12 dienām *Phialophora cinerescens* un pēc tam stādītas neļķes.

3.18. tabula

Fialoforās vītes intensitātes dinamika atkarībā no antagonistu darbības (ballēs), ja augsnē vispirms ievadīti antagonisti, pēc 3-12 dienām *Phialophora cinerescens*, pēc nedēļas stādītas neļķes

Pielietotie antagonisti	Nedēļas pēc inokulācijas					
	8	9	10	11	12	13
Kontrole	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	1.6
B 177	0.4	0.4	0.4	0.6	0.6	0.6
B 187	0	0	0	0	0	0
B 246	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
B 270	0	0	0	0.2	0.2	0.2
A 1835	0	0	0	0	0	0
T+B 246+B 270	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
T+B 187	0	0	0	0	0	0
B 131	0	0	0	0	0	0
	$\gamma = 0,4$	$\gamma = 0,4$	$\gamma = 0,5$	$\gamma = 0,5$	$\gamma = 0,6$	$\gamma = 0,7$

Novērojumi uzsākti, kad kontroles variantā parādījās tipiskas fialoforās vītes pazīmes (sk. 3.18. tab.). Šajā laikā variantos, kur augsnē ievadīti B 187, B 270, B 131, aktinomicēte un antagonistu komplekss T+ B 187 slimības simptomi vēl nebija novērojami. B 246 bija palielinājusi *Phialophora cinerescens* agresivitāti, un šajā variantā vītes intensitāte bija lielāka. Novērojumus turpinot, redzams, ka iepriekšminētie mikroorganismi aizkavē fialoforas attīstību apmēram divus mēnešus. Pēc tam sākas strauja augu nokalšana visos variantos.

Izmēģinājumu laikā Latvijas ZA Mikrobioloģijas institūtā tika izolēta un pārbaudīta vēl viena aktinomicēte. Institūta speciālistu veiktajos laboratorijas izmēģinājumos tā izcēlās ar izteiktu antagonismu attiecībā pret *Phialophora cinerescens*, tādēļ ierīkojām papildus izmēģinājumu tieši ar šo aktinomicēti (sk. 3.19. tab.).

Izteiktas vītes pazīmes kontroles variantā (tikai *Phialophora cinerescens*) novērojamas divus ar pusi mēnešus pēc augsnes inokulācijas ar patogēnu. Ja aktinomicēti ievada reizē ar *Phialophora cinerescens*, tad tā nespēj aizkavēt inficēšanos un sekojošu slimības attīstību. Turpretim, ja aktinomicēte ievadīta augsnē, pirms tā inokulēta ar patogēnu, inficēšanās tiek aizkavēta un turpmāk slimības attīstība norit lēnāk. Tomēr arī šajā gadījumā pēc diviem mēnešiem (kopš pirmo slimības pazīmju novērošanas brīža) vīte strauji attīstās visos variantos un seko vispārēja augu nokalšana.

3.19. tabula

Fialoforās vītes intensitātes dinamika atkarībā no aktinomicētes klātbūtnes (ballēs)

Izmēģinājuma varianti	Nedēļas pēc inokulācijas				
	10	11	12	13	14
Augsne inokulēta ar <i>Phialophora cinerescens</i>	1.0	1.8	1.8	2.0	2.8
Augsne vienlaicīgi inokulēta ar aktinomicēti un <i>Phialophora cinerescens</i>	0.7	1.0	1.8	2.8	3.2
Augsne inokulēta ar aktinomicēti, pēc nedēļas ar <i>Phialophora cinerescens</i>	0.1	0.2	0.6	0.8	2.6

Apmēram trīs mēnešus pēc augsnes inokulācijas (03.01.) nofotografēti augi no kontroles varianta un varianta, kur aktinomicēte ievadīta augsnē pirms patogēna (sk. 3.14. att.).



3.14. att. Neļķu fialoforās vītes intensitāte atkarībā no aktinomicētes klātbūtnes: pa kreisi - augsnē ievadīta aktinomicēte, novērojamas pirmās fialoforās vītes pazīmes, pa labi - kontroles variants (augsnē ievadīta tikai *Phialophora cinerescens*), augs novītis, nodzeltējis un sāk nokalst.

Izvērtējot rezultātus, kas iegūti dažādās izmēģinājumu sērijās, jāsecina, ka principā antagonistiskie mikroorganismi spēj aizkavēt *Phialophora cinerescens* darbību. Arī mēdzot, nav pārāk liela problēma dabā atrast dažādu grupu mikroorganismus, kam piemīt vairāk vai mazāk izteiktas antagonistiskas īpašības attiecībā pret *Phialophora cinerescens*. Tomēr parasti šis efekts novērojams tikai laboratorijas apstākļos, uz mākslīgajām barotnēm patogēna augšana tiek aizkavēta vai vispār nomākta. Diemžēl, neļķu audzēšanai piemērotā substrātā, augu klātbūtnē un noteiktos vides apstākļos rezultāti ir pavisam citādi, grūti prognozējami.

Mūsu izmēģinājumos fialoforās vītes intensitāti samazināja abas pārbaudītās aktinomicētes, baktērijas B 246, B 131, B 187 un B 270. Tai pašā laikā citos variantos antagonisti stimulēja *Phialophora cinerescens* darbību - vītes intensitāte bija lielāka nekā kontroles variantā. Līdzīgi rezultāti iegūti arī

citu zinātnieku pētījumos, tomēr nav izdevies noskaidrot, kādēļ vienā gadījumā noteiktu antagonistu pielietošana saslimšanu ar neļķu vīti samazina, bet citā - pat palielina. Tiek izteikta hipotēze, ka rezultāts ir atkarīgs no antagonistu devas, turklāt, novēroto parādību var izraisīt gan pārāk liela, gan pārāk maza antagonistu deva.

Acīmredzot, lai reāli varētu ierobežot *Phialophora cinerescens*, izmantojot antagonistus, galvenā uzmanība jāveltī antagonistu ievadišanas metodikas izstrādāšanai. Ļoti liela nozīme ir vides apstākļiem un konkurējošo mikroorganismu populāciju blīvumam. Mūsu izmēģinājumi ir tikai ieskats šajā problēmā, tomēr jau tagad ir skaidrs, ka efektīvi antagonisti var darboties tikai tad, ja tiek augsnē ievadīti pirms augu inficēšanās. Droši vien nepieciešama atkārtota antagonistu ievadišana. Lai varētu atrisināt šo jautājumu, nepieciešami ilgi un rūpīgi pētījumi. Principā *Phialophora cinerescens* bioloģiskā apkarošana ir iespējama, taču tā ir sarežģīta un dārga, prasa labas zināšanas un precīzu tehnoloģiju.

SECINĀJUMI

1. Latvijā neļķu vīte ir bīstamākā un izplatītākā neļķu slimībām. Siltumnīcās vidēji inficēti 32 % stādījumu.
2. Galvenais neļķu vītes ierosinātājs ir *Phialophora cinerescens* (49 %) un tikai 29 % gadījumu neļķu vīti ierosina *Fusarium oxysporum*.
3. Neatkarīgi no ierosinātāja neļķu vītes simptomi līdzīgi, galvenā atšķirīgā *Phialophora cinerescens* izraisītās slimības pazīme ir tā, ka vispirms vīst viens dzinums vai tikai tā viena puse. Iespējama lokāla vīšana stublāja vidus vai galotnes daļā. Ierosinātāja identifikācijai nepieciešama patogēna izdalīšana tīrkultūrā.
4. *Phialophora cinerescens* uz mākslīgajām barotnēm attīstās lēni, 25 dienas pēc uzsēšanas koloniju diametrs bija tikai 16,4 mm. Lai panāktu ātrāku micēlija attīstību un intensīvāku konīdiju veidošanos standarta Čapeka barotnē nātrija nitrātu vēlams aizstāt ar amonija nitrātu un glikozi ar maltozi.
5. *Phialophora cinerescens* attīstās neļķu ksilēmas audos, micēlijs aizsprosto vadaudus un tieši trahejās veidojas konīdijas. Tās attīstās sterigmu galos, kas sakārtotas pušķī, sākumā sporas sakopotas irdenās galviņās, vēlāk izirst pa vienai.
6. *Phialophora cinerescens* konīdiju vidējie izmēri ir 1,5 x 3,0 μm. Konīdiju dīgšana sākas pēc 24 stundām, 72 stundu laikā sadīgst 86 % konīdiju.
7. *Phialophora cinerescens* ir šauri specializēts patogēns, inficēt iespējams tikai neļķu dzimtas augus. Latvijā netiek audzetas pret šo patogēnu izturīgas šķirnes.
8. Atkarībā no patogēna iekļūšanas veida neļķēs, inkubācijas periods svārstās no 14 līdz 94 dienām. Visātrāk inficēšanās notiek, ja *Phialophora cinerescens* iekļūst neļķu sakņu kakliņā, inficēšanos veicina mehāniskie ievainojumi. Tomēr patogēna iekļūšana iespējama arī neļķu stublājā un caur nebojātiem audiem. Inficēšanās notiek gan ar micēliju, gan konīdijām.
9. Patogēns saglabājas augsnē un augu atliekās. Iespējama *Phialophora cinerescens* pārvietošanās augsnē no slimajiem augiem uz veselajiem.
10. Luminiscences mikroskopā inficēto neļķu ksilēmā novērojami plankumi, kas spīd spilgti zaļgani-dzeltenā gaismā. Šo metodi iespējams izmantot slimības diagnostikā.
11. Aktinomicētes, kā arī dažas baktērijas kavē fialoforās vītes attīstību. Tomēr to efektivitāte augsnē saglabājas tikai 2-3 mēnešus. Nepieciešami turpmāki pētījumi par antagonistu devām un to ievadišanas metodiku.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Alabouvette C., Eparvier Y., Couteaudier C. Steinberg Methods to be used to study the competitive interactions between pathogenic and nonpathogenic *Fusarium spp.* in the rhizosphere and at the root surface // New approaches in biological control of soil borne diseases.- Kobenhavn, 1992.- 1-8 pp.
2. Aloni R., Zimmerman, M.H. The control of vessel size and density along the plant axis. A new hypothesis // Differentiation.- 1983.- nr. 24.- 203-208 pp.
3. Andrucci E. Esperienza di disinfezione del terreno contro *Phialophora cinerescens* van Beyma, Nella Zona di Pescia // Notiziario, sulle, Malattie della Piante.- 1969.- v. 76-77, n. 3-4.- 208-219 pp.
4. Baayen R. P. Histology of roots of resistant and susceptible carnation cultivars from soil infected with *Fusarium oxysporum (f.sp. dianthi)*. // Netherlands, Journal of plant Pathology.- 1989.- v. 95 , n.1.- 3-13 pp.
5. Baayen R.P. Regeneration of vascular tissues in relation to fusarium wilt resistance of carnation. // Neth.Plant.Pathol.- 1986.- v.92., n.6.- 273-285 pp.
6. Baayen R. P., Elgersma D.M. Colonization and histopathology of susceptible and resistant carnation cultivars infected with *Fusarium oxysporum f. sp. dianthi* // Neth. J. Plant. Path.- 1985.- v. 91., n. 3.- 119-135 pp.
7. Baayen R. P., Niemann G. J. Correlations between accumulation of dianthramides, dianthalexin and unknown compounds, and partial resistance to *Fusarium oxysporum f. sp. dianthi* in eleven carnation cultivars // J. Phytophthol.- 1989(126).- N. 4.- 281-292 pp.
8. Baker R. Measures to control *Fusarium* and *Phialophora* wilt pathogens of carnation // Plant Diseases.- 1980.- v. 64, N. 8.- 743-749 pp.
9. Beckman, C. H. The nature of wilt diseases of plants // Min.:APS Press.- 1987., v.12.- 176-185 pp.
10. Bishop, C. D., Cooper, R. M. Ultrastructure of vascular colonization by fungal wilt pathogens // Physiol. Plant. Pathol.- 1983.- N. 23.- 323-343 pp.
11. Bishop C. D., Cooper R.M. An ultrastructural study of vascular colonization in tree vascular diseases. // Physiol. Plant. Pathol.-1984, v.24, n.3.- 277-289 pp.
12. Bolton A.T. Fan-mould of carnations caused by *Phialophora cinerescens* // Carnation Plant Disease Survey.-1978.- v.58, n. 4.- 83-84 pp.
13. Bonifacio A., Rumine, P. L'impiego del microscopio a fluorescenza nella diagnosi della malattia varicolaria de genofons // Inform. fitopatol.- 1984.- v. 1., n. 34.- 43-44 pp.
14. Brown M., White J. Applications of Scanning Electron Microscopy to Research in Plant Protection // Plant Diseases.- 1982.-v.66. n.4.- 282-290 pp.
15. Cain R. F. Studies of fungi imperfecti. I. *Phialophora* // Can. Journ Bot.-1952.- v. 30.- 338-343 pp.
16. Catesson A. M., Czaninski Y., Peresse M., Moreau M. Secretions intravasculaires de substances "gommeuses" par les cellules associees aux vaisseaux en reaction a une attaque parasitaire. // Bull. Soc Bot. Fr.- 1976.- v. 123.- 93-107 pp.
17. Cebolla V., Pera J. Suppressive effects of certain soils and substrates against *Fusarium* wilt of carnation // Acta. hort.,Wagening.-1984.- v.150.- 113-119 pp.
18. Chambel L., Cantinho C., Paeminha J. Isolation, identification and characterization of fluorescent pseudomonads *Rhizobacteria* // New approaches in biological control of soil borne diseases.- 1992.- v. 15, n.1.- 101-102 pp.
19. Cygudda L., Garibaldi A. Soil suppressive to *Fusarium* wilt of carnation: studies of mechanism of suppressiveness // Acta Hort.- 1987.- v. 216.- 67-76 lpp.

20. Dimond A. E. Biophysics and biochemistry of the vascular wilt syndrome // Ann. Rew. Phytopathol.- 1970.-v.8.- 301-322 pp.
21. Douglas J. P. Histochemical and morphological studies of carnation stem rot // Phytopathology.- 1992.- v.52, n.4.- 323-328 pp.
22. Dushowa E., Prokinova E. Interaction between growing substrate composition and *Fusarium* Wilt of carnation // Interactions between microorganisms and plants soil.- Proc.Int. Symp.- 1987.- 403-410 pp.
23. Evans E. G. Evaluation of benomil soil drenches for the control of *Verticillium* and *Fusarium* wilt of carnations // Plant Pathol .- 1976.- v.25.- 281-284 pp.
24. Feden N., O'Brien T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods // Am. J. Bot.- 1968.- v.55.- 123-142 pp.
25. Fillipi C., Bagnoli G. Antagonistic effects of soil bacteria on *Fusarium oxysporum* *Schlecht. sp. dianthi* // Plant and Soil.- 1987.- v.98, n. 2.- 161-167 pp.
26. Firstencel H., Butt T. M., Carruthers R.I. A fluorescence microscopy method for determining the viability of entomophthorale fungal spores // J. Invertebr. Pathol.- 1990.- v.55, n.2.- 258-264 pp.
27. Fletcher J. T., Martin J.A. Spread and control of fusarium wilt of carnation // Plant. Pathol.- 1972.- v.21, n.4.- 182-187 pp.
28. Freier K., Krebs B., et. Dosis-Wirkungs Beziehung und Populations Dynamik bei der Anwendung des Antagonisten *Bacillus subtilis* zur biologischen Bekämpfung von *Fusarium oxysporum f. sp. dianthi* // Zbl. Mikrobiol.- 1990.- n.8.- 563-578 pp.
29. Garaissils I. Neļķes.- Rīga.- 1981.- 171.lpp.
30. Garibaldi A. Influenza della distribuzione verticale nel suolo della *Phialophora cinerescens* selle efficacia della diversa profondita di somministrazione du fumiganti // Notizario Sulle Malattie delle Piante.- 1969.- Serie 7-8.- 80-81 pp.
31. Garibaldi A., Gullino M. Management of *Fusarium* wilt of carnation: an integration of different control measures // Brit. Crop. Prot. Conf. / Pests and disease /.-1986.- v.1.- 277-281 pp.
32. Garibaldi A. Attempts to control *Fusarium* wilt of carnation by the use of suppressive soil // Acta hortic., Wagening.- 1984.- v. 205.- 44-49 pp.
33. Garibaldi A., Brunatti F., Gullino M. Evaluation of several antagonists and different methods of application against fusarium wilt of carnation // Bull OEPP.- 1987.- v.17., n.4.- 625-629 pp.
34. Garibaldi A., Pergola G. Reaction of *Dianthus* species to *Phialophora cinerescens* // Poljoprivredna znanstvena smotra.- Agriculture consectus scientificus.- Zagreb.- 1976.- 127-130. pp.
35. Garibaldi A., Brunatti F. Soils suppressive to *Fusarium oxysporum f. sp. dianthi*: isolation of microorganisms and their antagonistic activity in vitro // La Difesa delle piante.- 1985.- 101-106 pp.
36. Garibaldi A., Gullino M. *Fusarium* wilt of carnation; present situation, problems and perspectives // Acta hortic.-1985.- n. 216.- 45-54 pp.
37. Garibaldi A. The use of suppressive soils as substrate for ornamental and flowering plants // Acta Horticulture.- 1984.- n. 150.- 103-111 pp.
38. Garibaldi A. Preliminary observations on the resistance of carnation cultivars to *Phialophora cinerescens* // Atti I Congresso Unione Firtopatologica Mediterranca.- 1987.- 571-573 pp.
39. Garold F.G. A technique for inoculating Plants with Vascular Pathogens // Phytopathology.-1969.- v.52., n.7.- 1014-1023 pp.

40. Gedaugas J., Žukliene R. Gvazdiku pašaknio ligos šiltmuisos // Augalu apsauga šiltadaržinose.- Vilnius.- 1978.- 41-42 pp.
41. Glaser T. Prosta, praktyczna metoda produkcji sadzenok goździków szklarniowych wolnych of patogenow paszyniowych // Roczniki Nauk Rolniczych.- Warszawa.- 1984.- t. 3.- 77-79 pp.
42. Harling R., Taylor G. S., Matthews P., Arther A. E. The effect of Temperature on Sympton Expression and Colonization in Resistant and Susceptible Carnations Cultivars Infected with *Fusarium oxysporum f.sp. dianthi* // J. Phytopathology.-1988.- v.121.- 103-117 pp.
43. Harling R., Taylor G. S. A light microscope study of resistant and susceptible carnations infected with *Fusarium oxysporum* // Can. J. Bot.- 1985.- v. 43.- 23-34 pp.
44. Harling R., Taylor G.S., Charlton W. A. Xylem vessel regeneration in carnation in response to infection by *Fusarium oxysporum f. sp. dianthi* // J. Plant Path.- 1984.- v. 20.- 173-176 pp.
45. Harry W., Mussel,A. Host Colonization an Polygalacturonase Production by Two Traheomycotic Fungi // Phytopathology.-1970.- v.60, n.-2. 192-196 pp.
46. Hood J. R. Factors affecting symptoms expression in *Fusarium* wilt of *Dianthus* // Phytopathology.- 1957.- v. 47., n.3.- 45-78 pp.
47. Huber J., Bochow H., Kanther P., Krewbs B., Junge H., Jacob M., Storek K, Juhr E., Veltzman R. Herstellung mikrobieller Antagonisten zur Bekämpfung von phytopathogenen Bodenpilzen // pat. 230456, VDR., iesn.18.09.85., N.2807616., Publ. 14.10.87., MKIA 01., n. 63/00.- 1987.
48. Ikoton T., Adekunle F. Inhibition of growth of some plant pathogenic fungi by some antagonistic microorganisms isolated from soil // J. Basic Microbiol.- 1990.- v. 30.- 95-98 pp.
49. Jacob M., Krebs B. Verbesserte Bekämpfung der *Fusarium*- Welke bei Edelnelken. /Gartenbau.- 1986.- v. 33. n. 7.- 214-215 pp.
50. Jacob M., Krebs B. Auftreten und Bekämpfung der *Fusarium*-Welke bei Edelnelken // Nachrichtenbl., Pflanzenschutz DDR.- 1985.- v. 39., N.1.- 16-19 pp.
51. Jalkovič D., Cvjetkovič B. Bolesni karanfila i zaštičnom prostaki // Glas. zašt. bilja.- 1985.- v.8, n.5.- 186-191 pp.
52. Kazuho M. Scanning electron Microscopy of the infection Process of *Rhizoctonia solani* n leaf Sheats of rice plants // Phytopathology.- 1986.- v. 76, n. 8.- 811-814 pp.
53. Keel C.J. Bacterial antagonists of plant pathogens in the rhizosphere // New approaches in biological control of soil borne diseases.- 1992.-15.1.- 93-99 pp.
54. Kinden D.A., Brown M.F. Techique for Scanning Electron Microscopy of Fungal Structures within Plant Cells // Phytopathology.- 1975.- v.65., n.1.- 74-77 pp.
55. Leszek B. Occurence and characteristics of *Fusarium oxysporum f. sp dianthi et Hansen* strains resistant to systemic fungicides // Acta Horticulture.- 1984.-N. 150.- 123-129 pp.
56. Linfield C. A. Cobweb disease of carnation- a new disease of imported flowers // Plant. Pathol.- 1987.- 36., N.2.- 221-223 pp.
57. Mac Hardy W. E., Beckman C. H. Vascular wilt *Fusaria*: infection and pathogenesis // *Fusarium*: diseases biology and taxonomy-1981.- 365- 390 pp.
58. Manka M., Fruzynska-Jozwiak K. Forest soil fungi for biocontrol of *Fusarium oxysporum dianthi*. // New approaches in biological control of soil borne diseases.- 1992.- 15.1.- 15-17 pp.
59. Margraf K., Hoffann L., Kiehn H. Die Getabfusariosen als dominierender Depressionsfaktor in der Edelnelkenproduction // Nachrichtenbl., Pflanzenschutz DDR.- 1986.,-N.11.- 219-223 pp.

60. Michael A.H., Nelson P.E. Antagonistic Effect of Soil Bacteria on *Fusarium roseum* from carnation // *Phytopathology*.- 1972.- v.62, n.9.- 1052-1057 pp.
61. Moreau M., Catesson A.M. Responses of carnation xylem parenchyma contact cells to noncompatible and compatible fungal vascular parasites introduced by wounding // *Ann. Bot.*- London.- 1985.- v. 55.- 225-236 pp.
62. Moreau M., Czaninski Y., Catesson A.M., Peresse M. Les cellules associees aux vaisseaux, siege des reactions de defence contre l'agression parasitaire dans les tissus du xyleme de l'oeillet // *C.R. Hebd. Seances Acad. Sci. Ser.*- 1973.- n. 277.- 1017-1020 pp.
63. Moreau M. Recherche systematique du *P. cinerescens* (Wr.) van Beyma dans les tissus de *Caryophyllacus* experimente lement infectus // *C.R.Hgar., Agr.Fr.*-1963.- XLIX.- 862-865 pp.
64. Moreau M., Catesson A.M., Peresse M., Czaninski Y. Dynamique comparee des reactions cytologiques du xyleme de l'oeillet en presence de parasites vasculaires // *Phytopasthol. Z.*- 1978.- n. 91.- 289-306 pp.
65. Moreau M., Catesson A. Nouvelle approche des maladies vasculaires et reflexions sur la specificite parasitaire // *Cryptogamie, Mycol.*- 1969.- t. 3., n. 1.- 11-31 pp.
66. Moreau M. Conidstions thermiques favorcebles a la croissane lineaire et la germination du *Phialophora cinerescens* // *Ann. Sci. natur.*- 1964.- ser. 12, n. 4.- 773-783 pp.
67. Moreau M. Evolution du complexe lignifiant de Zoillet cultivare sous les attaques du *Phialophora cinerescens* // *Rew de mycologie.*- 1957.- t. 22.- 156-165 pp.
68. Moreau M. Influence de la temperature sare development du *Phialophora cinerescens* agent de la vertilliasse de liceillet des fluristers // *Const rend. de scanes Acor., Paris.*- 1958.- t. 225, N. 1.- 1146-1152 pp.
69. Moreau M. Morphologie compare de guelogues *Phialophora cinerescens* (Wr.) van Beyma / *Rew mycol.*- 1963.- v. 28, N.3-5.- 260-267 pp.
70. Moreau M. Quelgues factours modifiant la croissane ponderable et la sporulation du *Phialophora cinerescens* (Wr.) van Beyma. // *Bull trimes.- Soc mycol.*- 1963.- t. 79.- 382-391 pp.
71. Mower R.L., Snyder W.C. Biological Control of Ergot by *Fusarium* // *Phytopathology.*- 1975.- v. 65., n.1.- 5-10 pp.
72. Nelson P., Toussoun M. Isolating, identification and producing inoculum of pathogenic species of *Fusarium* // *Methods for Evaluation Pesticides for Control of Plant pathogens.*- 1986.- 44-49 pp.
73. Nilsson C.I. *Phialophora* wilt of carnation *Dianthus caryophyllus*. The behavior of pathogen *Phialophora cinerescens* (Wr.) van Beyma in the host and the soil // *Dis. Abstr.*- 1965.- 25(6).- 3201-3214 pp.
74. Nilsson P., Nelson V. Nitrogen and Development of *Phialophora cinerescens* in Carnation / *Phytopathology.*- 1964.- v.54, n.9.- 1172-1173 pp.
75. Nilsson G.I., Dimock A.W. *Phialophora* wilt of carnation in New York State. // *Bull. N. J. State Flower Growers.*- 1964.- 223-225 pp.
76. Obieglo U. Biocontrol experiments with *Bacillus subtilis* during the rooting period of carnation cuttings under commercial conditions // *New approaches in biological control of soil borne diseases.*- 1992.-15.1.- 127-129 pp.
77. Palade G.E. A study of fixation for electron microscopy // *Journal of Experimental Medicine.*-1952.- N.95.- 285-297 pp.
78. Peer R., Niemann G.J., Schippers B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas sp.* // *Phytopathology.*- 1991.- v. 81.- 723-734 pp.

79. Pegg G.F. Life in a black hole- the micro-environment of the vascular pathogen // Trans. Br. mycol. Soc.-1985.- 85(1).- 1-20 pp.
80. Pennypacker B.W., Nelson P.E. Histopathology of carnation infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* // Phytopathology.- 1972.- v.62., n.11.- 1318-1326 pp.
81. Peresse M. Modifications cytologiques dans le xyleme de tige d'oeillets experimentale installation du *Phialophora cinerescens* // Phytopath. Z.- 1974.- 79.- 35-46 pp.
82. Peresse M. Penetration directe et transport passif de spores de *Phialophora cinerescens* dans le xyleme de d'oeillet // Phytopath. Medit.- 1971.- t. 10.- 260-268 pp.
83. Peresse M. Relations hôte-parasite dans les tracheomycoses. Quelques uns de leurs aspects dans le modele oilet- *Phialophora cinerescens* // Theses / Universite de Bretagne Occidentale / Brest.- 1975.- 200-201 pp.
84. *Phialophora cinerescens* (Wollenw.) v. Beyma.- Bulletin OEPP.- 1982.- v.12, n1.- 52-67 pp.
85. Pionnat J. C. Mise en evidence du Benomyl et du *Phialophora cinerescens* (Wr.) van Beyma dans les tigles d'oeillets Plantes en Sols infectes et triaites // Ann. Phytopathol.- 1971.- 3(2).- 207-214 pp.
86. Postma J. Biological control of Fusarium wilt of carnation with nonpathogenic *Fusarium* isolates; emphasis on colonization and inoculation methods // New approaches in biological control of soil borne diseases.- 1992.- 15.1.- 8-14 pp.
87. Rumine P., Parrini C. Lack of effectiveness of benzimidazole fungicides in controlling carnation wilt (*Phialophora cinerescens*) // Ann. Dell Istituto sperimentale Perla Floricoltura, Sanremo (Italy), ISSN 0304-0550.- 1982.- N.13.- 79-91 pp.
88. Schol-Schwarz M.B. Revision of the genus *Phialophora* (Moniliales).- Perssonia.-1970.- v.6, n.1.- 59-94 pp.
89. Sheir H M., Shehata M. R., El-Goorani M.N., El-Allaf S.M. Wilt and stem rot disease of carnation in Egypt // Acta Phytopathologica Academia Scientiarum, Hungaricae.-1982.- v.17(1-2).- 101-110 pp.
90. Tamietti G., Praotton P. La receptivite des sols aux fusarioses vasculaires avec reference particuliere aux *Fusarium* non pathogen // Agronomie.- 1990.- v.10, n.1.- 69-76 pp.
91. Tjamos C., Beckman C.H. Vascular wilt diseases of plants: Basic studies and control.- Berlin, Spring-Verl.- 1989.- 590 pp.
92. Tramier R., Pionnat J., Tebibel N. Role of fungi in the induction of suppressiveness into substrates to *Fusarium* wilt of carnation // Acta Horticulture.- 1983.- N. 141.- 55-59 pp.
93. Van Beyma thoe Kingma F.H. Arten der Gattungen *Phialophora* Thaxter und *Margarinomyces* Laxa, nebst Schlüssel zu ihrer Bestimmung // Antonie van Leeuwenhoek.- 1943.- v. 9.- 51-76 pp.
94. Vander Mollen G.E., Labavitch, J.M., Strand L.L., Devay J.E. Pathogen- induced vascular gels: ethylene as a host intermediate // Physiologia pl.-1983.- P. 59.- 543-580 pp.
95. Villani R., Mancini G., Rameri G. Prove biennali di lotta controla tracheofusariosi del garofano // Ann. Fac. Agr. Portici.- 1972.- v. 6.- 200-213 pp.
96. Welch B. L., Martin N. E. Scanning electron microscopy of *Pinus monticola* bark infected with *Cronartium ribicola* // Phytopathology.- 1973.- v. 63, n. 11.- 1420-1422 pp.
97. Whipps J.M. Concepts in mycoparasitism and biological controls of plant diseases // New approaches in biological control of soil borne diseases.- 1992.- 15.1.- 54-59 pp.
98. Wickens G.M. Wilt, stem rot and dieback of perpetual flowering carnation // Ann. Appl. Biol.- 1935.- v.22.- 670-683 pp.
99. Yuen G., Schroth M. Inhibition of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* by Iron with *Alcaligenes* sp. // Phytopathology.- 1986.- v. 76 (2).- 171-176 pp.

100. Yuen G. Reduction of *Fusarium* wilt of carnation with suppressive soils and antagonistic bacteria // Plant Diseases.- 1985.- v. 69.- 12-34 pp.
101. Zadoks I.C. Phytopathology at the Wagening Agricultural University // Netherlands Journal of Agricultural Science.- 1986.- v. 34.- 253-261 pp.
102. Андреев С., Мартенс Б. Итоги и перспективы применения биофизических методов в защите растений // Тр. ВНИИ Защиты Растений.- 1982.- вып 233.- С. 17.-34.
103. Андреев Е. Инструментальные методы в почвенной микробиологии Киев, Наукова думка.- 1982.- С. 123.
104. Ахмед Д. Сидорова С. Морфолого-культурная изменчивость и вирулентность возбудителя фиалофороза гвоздики // Микология и фитопатология.- 1990.- н. 24., т. 3.- С. 248.-250.
105. Ахмед Д. Наиболее вредоносные грибные болезни гвоздики ремонтантной в условиях защищенного грунта Ленинградской области и совершенствование комплекса мероприятий по борьбе с ними // Автореферат.- Ленинград.- 1990.- С. 32.
106. Багатурия М. Грибы вызывающие корневые гнили некоторых растений в окрестностях Тбилиси и меры борьбы с фузариозной корневой гнилью гвоздики // Автореферат.- Тбилиси.- 1990.- С. 41.
107. Багирова З. Пантелеев А. Использование микроорганизмов для борьбы с вилтом хлопчатника // Вопросы Защиты растений.- Тбилиси.- 1986.- С. 163.-165.
108. Бенкен А. Власова Э. Гусева Н. Методические указания по диагностике вертициллезного увядания хлопчатника.- Ленинград.- 1963.- С. 13.
109. Билай В. Определитель грибов рода *Fusarium* // Метоболиты почвенных микроорганизмов.- Киев, Наукова Думка.- 1971.- С. 178.
110. Билай В. Методы экспериментальной микологии.- Киев.- 1978.- С. 234.
111. Ведерников Н. Совершенствование методов учета очагов болезней в питомниках // Пути ускорения научно-технического прогресса в лесо-хозяйстве .- Каунас.- 1986.- С. 57-62.
112. Водоявленская Р. Фиалофороз гвоздики // Цветоводство.- 1985.-Н. 1.- С. 16-17
113. Войтюк Л. Использование триходермина против фузариоза гвоздики ремонтантной // Защита растений.- т. 33.- С. 44.-48.
114. Вороненко Е. Н., Примаковская М. А., Савельева А.В. Фиалофоровое увядание гвоздики // Защита растений.- 1978.- Н. 7.- С. 43.-43.
115. Димитров С. Проучвания върху фиалофорного увяхване (*Phialophora cinerescens*) по оранжерийния карамфил и борбата с него // Градинарска и лозарока наука, София.- 1978.- Н. 6.- С. 43.-51.
116. Гребенюк М. *Phialophora cinerescens* (Wr.) van Веума збудник епшфштой ремонтантной гвоздшкш // Украинский ботанический журнал.- 1988.- Н. 5.- С. 89.-90.
117. Гедраускас И. Наиболее часто встречаемые болезни гвоздики и их возбудители в закрытом грунте // Защита растений в теплицах.- Вильнюс.- 1981.- С. 43.
118. Заар Э. Потлайчук В. Таценко И. Люминесцентные свойства грибов рода *Fusarium* поражающих семена злаков // Тр. ВИЗР.- 1977.- С. 27.-35.
119. Калнина Л. Выявление маточников растений гвоздики зараженных фузариозом и меры борьбы их защиты.- Москва.- 1983.- С. 23
120. Кулибаба Ю. Фузариозы гвоздики ремонтантной и разработка мер борьбы с ними // Защита декоративных растений от вредителей в условиях Закавказья, Мшциреда.- 1980.- С. 46.-49.
121. Кулибаба Ю. Методы защиты цветочных растений от болезней // Цветоводство и декоративное садоводство в Южной зоне СССР.- Сочи.- 1968.- С. 28.-34.
122. Кулибаба Ю. Изучение болезней цветочных растений в Черноморской зоне Краснодарского края.- Сухуми, Алшара.- 1969.- С. 286.-295.

123. Кулибаба Ю. Методические указания по выявлению и учету болезней цветочных культур.- Москва, Колос.- 1974.- С. 29.
124. Кузнецов В., Кудрявцева А., Шкляр С. Перспективы применения препаратов актиномицетного происхождения для борьбы с болезнями с-х культур // Фундаментальные науки- народному хозяйству.- Москва.- 1990.- С. 266-267.
125. Крупская Т., Сухоруков А. Использование сканирующей электронной микроскопии для изучения фитопатогенных грибов // Научн. техн. бюль. Сиб. НИИ земледелия и химизации с.х.- 1989.- Н. 1.- С. 32-37.
126. Кобзарова В. О возбудителях фузариоза ремонтантной гвоздики // Физиология и биология низших растений / Тезисы докладов.- Минск.- 1982.- С. 71.-72.
127. Коршунова А., Чумаков А., Щекочихина Р. Защита пшеницы от корневых гнилей.- Ленинград, Колос.- 1976.- С. 183.
128. Котетигивили З., Меладзе Э. Влияние грибов-антагонистов на некоторые патогенные грибы выделенные из ризосферы огурцов и арбуза // Вопросы защиты растений.- Тбилиси.- 1986.- С. 179-180.
129. Лайош Р. Возможность применения люминесцентного анализа для ранней диагностики фитофтороза картофеля и ложной мучнистой росы подсолнечника и табака // Тезисы докладов совещания по применению методов люминесцентного метода.- 1969.- С. 34-38.
130. Лайош Р. О методах ранней диагностики болезней растений // Автореферат.- Москва.- 1969.
131. Ланецкий В. Изучение инфекционного процесса ржавчины методом люминесцентной микроскопии // Микология и фитопатология.- 1975.- т. 9., вып. 4.- С. 24-45.
132. Ланецкий В. Солнечный луч диагностирует вилт хлопчатника // Защита растений.- 1984.- Н. 8.- С. 44-45.
133. Ланецкий В., Пospelова Л. Люминесцентно-цитологическая диагностика вилтоустойчивости // Защита растений.- 1985.- Н. 7.- С. 27-31.
134. Ланецкий В. Люминесцентный анализ и пути его развития в области защиты растений // Тезисы докладов совещания по применению методов люминесцентного анализа.- Ленинград.- 1969.- С. 46-49.
135. Ланецкий В. Люминесцентный анализ в защите растений // Защита растений.- 1974.- Н. 6.- С. 18-22
136. Ланецкий В., Гусева Н. Вилтоскоп полевой // Хлопководство.- 1969.- Н. 1.- С. 32
137. Ланецкий В. Методы регистрации флуоресцирующих веществ в тканях растений инфицированных микроорганизмами // Автореферат.- Ленинград.- 1966
138. Мирковаб Е., Ванеев С. Базично и кореново тниене по оранжерийния карамфил-причинители реакция на сортава и химични средства за борба // Почвозн. агрохим. и рас. защита- 1986.- Н. 5.- С. 99-104
139. Митрофанова О., Зленко И. Методические рекомендации по диагностике болезней гвоздики.- Ялта.- 1981.- С. 46
140. Методические указания по изучению изменчивости популяций фитопатогенных грибов.- Ленинград, ВИЗР.- 1981.- С.32
141. Новый перечень карантинных объектов. Потенциально опасные для СССР объекты // Защита растений.- 1987.- Н. 4.- С. 47
142. Основные методы фитопатологических исследований // Научные труды ВАСХНИЛ.- Москва.- 1974.- С. 189
143. Ошхерели М. Представители рода *Phialophora* в Грузии // Тез. докл. сов. о причинах усыхания плодовых деревьев в Закавказских республиках.- Ереван.- 1973.- С. 23-24

144. Онофраш Л. Зависимость проявления трахеомикозных заболеваний от сосудисто-проводящей системы растений и морфологических особенностей спор грибов // Генетика иммунитета и селекция с-х растений на устойчивость в Молдавии.- Кишинев.- 1984.- С. 53-58
145. Попкова К., Фролякина А. Влияния некоторых биологических факторов на развитие возбудителей фузариозного увядания гвоздики ремонтантной // Тез. докл. Всесоюзн. конф / Лимитирование и ингибирование роста микроорганизмов.- Пушкино.- 1989.- С.68-69
146. Потлайчук В., Хлопунова Л. Фитопатогенные виды рода *Phialophora* // Микология и фитопатология.- 1986.- т. 20., н. 3.- С.178- 183
147. Потлайчук В. Культурально-морфологическая изменчивость видов *Phialophora* в зависимости от различных источников питания // Материалы 6. симпозиума микологов и лихенологов Прибалтийских республик.- Рига.- 1971.- С.34-35
148. Потлайчук В. Методические указания по определению грибов рода *Phialophora*.- Ленинград.- 1971.- С. 48
149. Потлайчук В. Новые и редкие виды *Phialophora Thaxter in Medlar* в СССР // Новости систематики низших растений.- Ленинград, Наука.- 1972.- т. 9.- С. 187- 190
150. Рубин Б., Макарова Е., Веселовский В., Веселова Т. Использование методов сверхслабого свечения и длительного послесвечения в работах по патогенезу растений // Сельскохозяйственная биология.- 1974.- т. 9, н. 2.- С.23- 28
151. Симонян С., Мамикаян Т. Новое для Армянской ССР заболевание ремонтантной гвоздики- фиалофороз // Тез. 23 сессии совета ботанических садов Закавказья по вопросам интродукции селекции физиологии биохимии и защиты растений.- 1988.- С.123-124
152. Савельева А. Фиалофороз- увядание гвоздики ремонтантной // Цветоводство.- 1975.- н. 4.- С.19
153. Салов С. Биологические особенности гриба рода *Phialophora cinerescens* // Защита декоративных растений от вредителей и болезней в условиях Закавказья.- Минипред.- 1980.- С. 27-34
154. Салов С. Увядания ремонтантной гвоздики и меры борьбы с ним // Автореферат.- Тбилиси.- 1986.- С. 42
155. Салов С. Новые системные фунгициды в борьбе с болезнями увядания ремонтантной гвоздики // Пути интенсификации промышленного цветоводства.- Сочи.- 1981.- С.32-34
156. Снешкене В., Струкчинскас А. Грибные болезни цветов закрытого грунта обнаруженные в Литве до 1986 года и направление дальнейших исследований // Lietuvos TSR Mokslu Akademijos Darbai Truds.- 1988.- т. 1.- С. 54- 60
157. Тарусов Б., Веселовский В. Использование послесвечения в исследовании заболевания хлопчатника вилтом // Сверхслабые свечения растений и их прикладное значение.- Изд. Московского университета.- 1978.- С.123- 135
158. Цакадзе Т. Гриб *Phialophora atrum* вызывающий трахеомикозное заболевание плодовых культур // Тр. Института защиты растений.- Тбилиси.- 1970.- С. 274-278
159. Чумаков А. Основные методы фитопатологических исследований.- Москва, Колос.- 1974.- С.123
160. Щекочихина Р., Гапонова А., Наумова И. Использование люминисценции для выявления скрытого заражения яровой пшеницы бурой ржавчиной // Микология и фитопатология.- 1982.- т. 16, н. 3.- С. 19-23
161. Хохряков М. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов.- Ленинград, ВНИИЗР.- 1988.- С.37
162. Фадеева Ю. Инфекционные фоны в фитопатологии.- Москва, Колос.- 1979.- С. 143

163. Фролякина А. Видовой состав возбудителей болезней гвоздики ремонтантной в Московской области // Тр. науч. конф. молодых ученых ТСХА.- Москва.- 1989.- С. 523- 534
164. Фролякина А. Обоснование направлений в биологической защите гвоздики ремонтантной от фузариозного увядания.- Авторреферат.- Москва.- 1990.- С. 38
165. Фролякина А., Кудрявцева А., Кузнецов И. Микроорганизмы-антагонисты и антибиотические препараты в защите гвоздики ремонтантной от фузариозного увядания // Тез. докладов Всесоюзн. 3. конф., Микроорганизмы- стимуляторы и ингибиторы роста растений и животных.- Ташкент.- 1989.- С. 208

PIELIKUMI

I. pielikums

Fialoforās vītes intensitāte atkarībā no neļķu šķirnes

Novērojumi izdarīti 23.03.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	2.385714	6	0.397619	4.801917	0.000544	2.271989
Columns	0.503571	9	0.055952	0.675719	0.727146	2.05852
Error	4.471429	54	0.082804			
Total	7.360714	69				
$\gamma=$	0.271152					

Novērojumi izdarīti 20.04.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	12.33571	6	2.055952	7.570872	6.41E-06	2.271989
Columns	1.585714	9	0.17619	0.648807	0.750363	2.05852
Error	14.66429	54	0.271561			
Total	28.58571	69				
$\gamma=$	0.491044					

Novērojumi izdarīti 25.05.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	16.55	6	2.758333	6.127828	6.02E-05	2.271989
Columns	4.942857	9	0.549206	1.2201	0.302404	2.05852
Error	24.30714	54	0.450132			
Total	45.8	69				
$\gamma=$	0.632203					

Novērojumi izdarīti 29.06.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	3.321429	6	0.553571	0.701593	0.649504	2.271989
Columns	8.217857	9	0.913095	1.157251	0.340687	2.05852
Error	42.60714	54	0.789021			
Total	54.14643	69			0.83701	

2. pielikums

Neļķu vītes intensitāte atkarībā no inokulācijas veida

Novērojumi izdarīti 06.04.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	1.802083	7	0.25744	3.089286	0.007971	2.178155
Columns	0.5	8	0.0625	0.75	0.647425	2.108688
Error	4.666667	56	0.083333			
Total	6.96875	71				
$\gamma=$	0.271794					

Novērojumi izdarīti 11.05.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	75.93056	7	10.84722	21.59269	8.45E-14	2.178155
Columns	7.090278	8	0.886285	1.764256	0.103875	2.108688
Error	28.13194	56	0.502356			
Total	111.1528	71				
$\gamma=$	0.667324					

Novērojumi izdarīti 22.06.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	88.48611	7	12.64087	6.905297	6.36E-06	2.178155
Columns	12.98611	8	1.623264	0.886736	0.533566	2.108688
Error	102.5139	56	1.830605			
Total	203.9861	71				
$\gamma=$	1.273879					

2. pielikuma turpinājums

Novērojumi izdarīti 20.07

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	25.66319	7	3.666171	2.37024	0.034023	2.178155
Columns	13.38194	8	1.672743	1.081456	0.389432	2.108688
Error	86.61806	56	1.546751			
Total	125.6632	71				
$\gamma=$	1.170957					

3. pielikums

Neļķu vītes intensitāte atkarībā no pielietotajiem antagonistiem

1. izmēģinājumu sērija

1. variantu grupa

Novērojumi izdarīti 14.03.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	1.444444	8	0.180556	1.072165	0.406563	2.244398
Columns	0.611111	4	0.152778	0.907216	0.471479	2.668436
Error	5.388889	32	0.168403			
Total	7.444444	44				

Novērojumi izdarīti 21.03.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	2.6	8	0.325	1.668449	0.144788	2.244398
Columns	0.366667	4	0.091667	0.470588	0.756884	2.668436
Error	6.233333	32	0.194792			
Total	9.2	44				

Novērojumi izdarīti 28.03.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	12.3	8	1.5375	1.877863	0.098594	2.244398
Columns	1.7	4	0.425	0.519084	0.722272	2.668436
Error	26.2	32	0.81875			
Total	40.2	44				

3. pielikuma turpinājums

Novērojumi izdarīti 04.04.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	20.37778	8	2.547222	2.933227	0.014147	2.244398
Columns	3.411111	4	0.852778	0.982007	0.431207	2.668436
Error	27.78889	32	0.868403			
Total	51.57778	44				
$\gamma=$	0.892144					

Novērojumi izdarīti 11.04.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	16.77778	8	2.097222	3.627628	0.00416	2.244398
Columns	7.2	4	1.8	3.113514	0.028497	2.668436
Error	18.5	32	0.578125			
Total	42.47778	44				
$\gamma=$	0.727923					

Novērojumi izdarīti 18.04.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	8.944444	8	1.118056	2.448669	0.034268	2.244398
Columns	3.688889	4	0.922222	2.019772	0.115231	2.668436
Error	14.61111	32	0.456597			
Total	27.24444	44				
$\gamma=$	0.646905					

3. pielikuma turpinājums

2. izmēģinājumu grupa

Novērojumi izdarīti 15. 03.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	0.7	8	0.0875	2.896552	0.015115	2.244398
Columns	0.133333	4	0.033333	1.103448	0.37188	2.668436
Error	0.966667	32	0.030208			
Total	1.8	44				
$\gamma=$	0.166393					

Novērojumi izdarīti 21.03.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	1.144444	8	0.143056	2.710526	0.021191	2.244398
Columns	0.111111	4	0.027778	0.526316	0.71713	2.668436
Error	1.688889	32	0.052778			
Total	2.944444	44				
$\gamma=$	0.219938					

Novērojumi izdarīti 28.03.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	7.2	8	0.9	6	0.000101	2.244398
Columns	0.3	4	0.075	0.5	0.735872	2.668436
Error	4.8	32	0.15			
Total	12.3	44				
$\gamma=$	0.370783					

3. pielikuma turpinājums

Novērojumi izdarīti 04.04.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	18.74444	8	2.343056	5.321767	0.000273	2.244398
Columns	0.611111	4	0.152778	0.347003	0.844122	2.668436
Error	14.08889	32	0.440278			
Total	33.44444	44				
$\gamma=$	0.63524					

Novērojumi izdarīti 11.04.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	22.07778	8	2.759722	5.253139	0.000302	2.244398
Columns	1.588889	4	0.397222	0.756114	0.56148	2.668436
Error	16.81111	32	0.525347			
Total	40.47778	44				
$\gamma=$	0.693901					

Novērojumi izdarīti 18.04.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	33.07778	8	4.134722	6.53209	4.83E-05	2.244398
Columns	1.144444	4	0.286111	0.452002	0.770166	2.668436
Error	20.25556	32	0.632986			
Total	54.47778	44				
$\gamma=$	0.761678					

3. pielikuma turpinājums

3. variantu grupa

Novērojumi izdarīti 15. 03.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	0.411111	8	0.051389	3.44186	0.005738	2.244398
Columns	0.022222	4	0.005556	0.372093	0.826748	2.668436
Error	0.477778	32	0.014931			
Total	0.911111	44				
$\gamma=$	0.116982					

Novērojumi izdarīti 21.03.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	2.111111	8	0.263889	5.066667	0.000401	2.244398
Columns	0.133333	4	0.033333	0.64	0.637835	2.668436
Error	1.666667	32	0.052083			
Total	3.911111	44				
$\gamma=$	0.218485					

Novērojumi izdarīti 28.03.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	2.2	8	0.275	4.351648	0.00124	2.244398
Columns	0.477778	4	0.119444	1.89011	0.136304	2.668436
Error	2.022222	32	0.063194			
Total	4.7	44				
$\gamma=$	0.240665					

4. pielikums

2. izmēģinājumu sērija

I. variantu grupa

Novērojumi izdarīti 14.12.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	12.41111	8	1.551389	2.840432	0.016731	2.244398
Columns	0.722222	4	0.180556	0.330579	0.85533	2.668436
Error	17.47778	32	0.546181			
Total	30.61111	44				
$\gamma=$	0.707526					

Novērojumi izdarīti 21.12.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	19.81111	8	2.476389	3.968837	0.002331	2.244398
Columns	0.633333	4	0.158333	0.253756	0.905224	2.668436
Error	19.96667	32	0.623958			
Total	40.41111	44				
$\gamma=$	0.756227					

Novērojumi izdarīti 27.12.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	29.2	8	3.65	3.154862	0.009512	2.244398
Columns	3.777778	4	0.944444	0.816327	0.524262	2.668436
Error	37.02222	32	1.156944			
Total	70	44				
$\gamma=$	1.029747					

4. pielikuma turpinājums

Novērojumi izdarīti 05.01.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	28.9	8	3.6125	2.644637	0.023904	2.244398
Columns	6.088889	4	1.522222	1.114387	0.366897	2.668436
Error	43.71111	32	1.365972			
Total	78.7	44				
$\gamma=$	1.11891					

Novērojumi izdarīti 11.01.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	30.27778	8	3.784722	2.691358	0.021946	2.244398
Columns	4.8	4	1.2	0.853333	0.502268	2.668436
Error	45	32	1.40625			
Total	80.07778	44				
$\gamma=$	1.135287					

Novērojumi izdarīti 17.01.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	27.84444	8	3.480556	2.323598	0.043178	2.244398
Columns	8.466667	4	2.116667	1.413074	0.252033	2.668436
Error	47.93333	32	1.497917			
Total	84.24444	44				
$\gamma=$	1.171705					

4. pielikuma turpinājums

2. variantu grupa

Novērojumi izdarīti 14.12.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	4.144444	8	0.518056	3.535545	0.004876	2.244398
Columns	0.311111	4	0.077778	0.530806	0.713942	2.668436
Error	4.688889	32	0.146528			
Total	9.144444	44				
$\gamma=$	0.366467					

Novērojumi izdarīti 21.12.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	5.144444	8	0.643056	2.907378	0.014823	2.244398
Columns	0.522222	4	0.130556	0.590267	0.672096	2.668436
Error	7.077778	32	0.221181			
Total	12.74444	44				
$\gamma=$	0.450244					

Novērojumi izdarīti 27.12.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	14.51111	8	1.813889	3.340153	0.006855	2.244398
Columns	1.022222	4	0.255556	0.470588	0.756884	2.668436
Error	17.37778	32	0.543056			
Total	32.91111	44				
$\gamma=$	0.705499					

4. pielikuma turpinājums

Novērojumi izdarīti 04.01.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	14.4	8	1.8	3.272727	0.007719	2.244398
Columns	1.2	4	0.3	0.545455	0.703563	2.668436
Error	17.6	32	0.55			
Total	33.2	44				
$\gamma=$	0.709996					

Novērojumi izdarīti 11.01.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	16.71111	8	2.088889	2.954813	0.013607	2.244398
Columns	1.777778	4	0.444444	0.628684	0.64556	2.668436
Error	22.62222	32	0.706944			
Total	41.11111	44				
$\gamma=$	0.804946					

Novērojumi izdarīti 17.01.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	24.71111	8	3.088889	3.943262	0.002433	2.244398
Columns	2.533333	4	0.633333	0.808511	0.528994	2.668436
Error	25.06667	32	0.783333			
Total	52.31111	44				
$\gamma=$	0.84732					

4. pielikuma turpinājums

3. izmēģinājumu grupa

Novērojumi izdarīti 14.12.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	5.975	7	0.853571	5.139785	0.000755	2.359258
Columns	0.15	4	0.0375	0.225806	0.921662	2.714074
Error	4.65	28	0.166071			
Total	10.775	39				
$\gamma=$	0.390141					

Novērojumi izdarīti 21.12.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	6.444444	8	0.805556	4.461538	0.001038	2.244398
Columns	1.022222	4	0.255556	1.415385	0.251291	2.668436
Error	5.777778	32	0.180556			
Total	13.24444	44				
$\gamma=$	0.406799					

Novērojumi izdarīti 27.12.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	7.28	9	0.808889	3.5	0.003366	2.152607
Columns	0.48	4	0.12	0.519231	0.722097	2.633534
Error	8.32	36	0.231111			
Total	16.08	49				
$\gamma=$	0.46024					

4. pielikuma turpinājums

Novērojumi izdarīti 04.01.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	6.844444	8	0.855556	3.311828	0.007205	2.244398
Columns	0.533333	4	0.133333	0.516129	0.724375	2.668436
Error	8.266667	32	0.258333			
Total	15.64444	44				
$\gamma=$	0.486591					

Novērojumi izdarīti 11.01.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	7.511111	8	0.938889	2.173633	0.057009	2.244398
Columns	0.977778	4	0.244444	0.565916	0.689136	2.668436
Error	13.82222	32	0.431944			
Total	22.31111	44				
$\gamma=$	0.629199					

Novērojumi izdarīti 17.01.

<i>e of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Rows	10.71111	8	1.338889	2.648352	0.023742	2.244398
Columns	0.222222	4	0.055556	0.10989	0.978183	2.668436
Error	16.17778	32	0.505556			
Total	27.11111	44				
$\gamma=$	0.680705					

5. pielikums

Traheomikožu ierosinātāju augšana uz Čapeka barotnes

Dienas pēc uzsēšanas	koloniju diametrs (mm)	
	<i>Phialophora cinerescens</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
5	1.8	18.5
10	5.8	61.8
15	7.5	70.3
20	20.0	83.8
25	24.6	86.8
30	24.7	88.3

Neļķu vītes intensitāte (ballēs)

Dienas pēc inokulācijas	neļķu vītes ierosinātāji	
	<i>Phialophora cinerescens</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
28	0.95	0.07
35	1.0	0.40
42	1.15	0.75
49	1.65	0.80
56	1.95	0.95
63	2.05	1.10
70	2.35	1.20