

**Agrovoc descriptors:** vaccinium corymbosum, blueberries, anthracnosis, fungal diseases, colletotrichum, symptoms, identification, diagnosis

**Agris category code:** H20

## **Antraknoza pri ameriških borovnicah (*Vaccinium corymbosum* L): povzročitelji in epidemiologija bolezni**

Alenka MUNDA<sup>1</sup>

Delo je prispelo 02. decembra 2011, sprejeto 19. januarja 2012.

Received December 02, 2011; accepted January 19, 2012.

### IZVLEČEK

Antraknoza sodi med najpomembnejše glivične bolezni gojenih borovnic. Prizadene predvsem plodove: v času zorenja in med skladiščenjem se značilno zgubajo in zmečajo, prekrijejo jih oranžne sluzaste gmote trosov. V letih 2005 - 2009 smo v nasadih ameriških borovnic na Ljubljanskem barju zbrali 33 primerkov simptomatičnih rastlin. S standardnimi mikroskopsko morfološki in molekularni tehnikami smo ugotovili, da je povzročiteljica antraknoze pri ameriških borovnicah gliva *Colletotrichum fioriniae*. S sukcesivno izolacijo iz naravno okuženih ameriških borovnic smo ugotovili, da je gliva *C. fioriniae* navzoča tekom vse rastne dobe. Izolirali smo jo tako iz organov in tkiv z izraženimi bolezenskimi znamenji kot tudi iz navidezno zdravih. Potrdili smo, da gliva prezimi v poganjkih z odmrli vršički ter v ostankih pecljevine, pa tudi v navidezno zdravih poganjkih in brstih. Brsti, zlasti rodni, so poleg poganjkov z odmrli vršički in ostankov pecljevine najpomembnejši vir primarnega inokuluma.

**Ključne besede:** ameriška borovnica, antraknoza, *Colletotrichum fioriniae*

### ABSTRACT

#### **ANTRACNOZE IN AMERICAN BLUEBERRY (*Vaccinium corymbosum* L): FUNGUS AND EPIDEMIOLOGY OF DISEASE**

Anthracnose is one of the most important fungal diseases of cultivated blueberries. It mainly affects fruits and causes rotting of ripe fruit both before harvest and during storage. Infected blueberries become wrinkled, soft and covered with slimy orange conidial masses. In the years 2005 -2009 we collected 33 samples of symptomatic plants from high-bush blueberry plantations in the Ljubljana Wetland. Using standard morphological and molecular methods we identified *Colletotrichum fioriniae* as the causative agent of the disease. Successive isolations from naturally infected high-bush blueberry bushes revealed the presence of *C. fioriniae* during the entire growing season. It was consistently isolated from symptomatic as well as from symptomless tissues. We confirmed that the fungus overwinters in canes with dead tips and fruit spurs and also in symptomless canes and buds. Buds, particularly flower buds, appear to be the most important source of primary inoculum apart from canes with dead twigs and fruits spurs.

**Key words:** high-bush blueberry, anthracnose, *Colletotrichum fioriniae*

### 1 UVOD

Antraknoza je pomembna glivična bolezen gojenih borovnic. Prizadene številne vrste iz rodu *Vaccinium*, predvsem severnoameriške vrste *V. corymbosum*, *V. angustifolium* in *V. ashei*. Bolezen je razširjena in gospodarsko pomembna v številnih pridelovalnih območjih borovnic v ZDA in Kanadi (Milholland, 1995; Verma in sod. 2006). Tamkajšnji pridelovalci borovnic ocenjujejo, da zaradi nje vsako leto propade 10 - 20 % pridelka, med skladiščenjem pa se obseg škod znatno poveča in doseže tudi do 80 % (Milholland 1995).

Znamenja antraknoze so najbolj izrazita na dozorevajočih borovnicah: okužene jagode se zmečajo in zgubajo, prekrijejo jih gmote trosov, ki so videti kot oranžno rjave kapljice na površju plodov. Prizadeti plodovi odpadejo z grmov, so neokusni in neuporabni. Pogosto se bolezenska znamenja pokažejo šele med skladiščenjem borovnic ali prevozom na tržišče. Bolezen prizadene tudi poganjke in liste, na katerih povzroča nekroze (Yoshida in Tsukiboshi, 2002); večja gospodarska škoda pa nastane le na plodovih.

<sup>1</sup> Dr., Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana, Slovenija, e-mail: alenka.munda@kis.si

Bolezen povzročajo glive iz rodu *Colletotrichum*. Rod je taksonomsko zelo zapleten. Opravljenih je bilo več temeljitih revizij (von Arx, 1957; Sutton, 1992; Hyde in sod., 2009), vendar število vključenih vrst in njihov status še nista dorečena. Na osnovi taksonomskih in filogenetskih raziskav, opravljenih v zadnjih letih predvidevajo, da rod *Colletotrichum* obsega 66 vrst (Hyde in sod., 2009). Številne so gospodarsko zelo pomembne in povzročajo nevarne bolezni na kmetijskih rastlinah, pa tudi na okrasnem in gozdnem drevju ter grmičevju. Razširjene so v zmernem, tropskem in subtropskem pasu. Zmožnost, da povzročijo latentno ali skrito okužbo jih uvršča tudi med pomembne povzročiteljice skladiščnih bolezni. Bolezenska znamenja, ki jih povzročajo, imenujemo antraknoza in se kažejo kot uleknjene, bolj ali manj okrogle temne pege na katerih se razvijejo trosišča (acervuli) in rožnati do oranžni skupki trosov. Nekatere vrste rodu *Colletotrichum* imajo zelo širok spekter gostiteljev, druge so ozko specializirane na posamezne družine, rodove, vrste ali celo kultivarje.

V starejših virih navajajo kot povzročiteljico antraknoze pri ameriških borovnicah vrsto *C. gloeosporioides* (Hartung in sod. 1981; Daykin in Milholland, 1984), v novejših pa vrsto *C. acutatum* (Verma in sod., 2006; Yoshida in Tsukiboshi, 2002, Talgø in sod., 2007). Gliva *C. acutatum* je do nedavnega veljala za glavno povzročiteljico antraknoze pri sadnem drevju in jagodičevju. Prvič je bila najdena v Avstraliji leta 1965. Kasneje so jo zasledili na več kot štiridesetih gostiteljih

po vsem svetu. Pri različnih gostiteljih okuži različne organe in tkiva in povzroča različne bolezni: črno pegavost jagod, sušenje poganjkov, defoliacijo in propadanje plodov pri mandlju, gnitje plodov pri jabolani, oljki, češnji in citrusih ter druge bolezni (Brown in sod., 1996; Talhinhos in sod., 2005; Børve in Stensvand, 2006; Freeman in Katan, 1997). Zaradi velikega gospodarskega pomena so jo v Evropski zvezi uvrstili med karantenske škodljive organizme, pred nekaj leti pa umaknili s seznama zaradi njene vesplošne razširjenosti v naravnem okolju. V zadnjih letih ugotavljajo, da *C. acutatum* ni enotna vrsta, temveč kompleks, ki vključuje več različnih vrst in molekularnih skupin. V populaciji glive so sprva identificirali osem molekularnih skupin in jih poimenovali A1 do A8 (Sreenivasaprasad in Talhinhos, 2005), kasneje pa štiri molekularne skupine opisali kot samostojne vrste: *C. simmondsii*, *C. fiorinae*, *C. clavatum* in *C. acutatum* sensu stricto (Shivas in Tan, 2009; Faedda in sod., 2011).

V nasadih ameriških borovnic na Ljubljanskem barju je antraknoza ena najpomembnejših bolezni. V letih, ki so za njen razvoj ugodna, povzroči pri občutljivih sortah velik izpad pridelka. O bolezni smo poročali leta 2006 in kot povzročiteljico identificirali vrsto *C. acutatum* s.l. (Munda in Žerjav, 2006). Namen sedanje raziskave je bil identificirati povzročitelje bolezni glede na novejša taksonomska spoznanja o rodu *Colletotrichum* ter raziskati vire okužbe in druge ključne dejavnike bolezenskega cikla v naših pridelovalnih razmerah.

## 2 MATERIAL IN METODE

Primerke ameriških borovnic (*Vaccinium corymbosum* L.) z znamenji antraknoze smo nabrali v nasadih na Ljubljanskem barju, v okolici Borovnice in na Drenovem griču. V letih 2005 – 2009 smo zbrali in analizirali 33 vzorcev simptomatičnih rastlin. Iz okuženega rastlinskega materiala smo izolirali povzročitelje bolezni po standardnem postopku: obolele rastlinske dele smo površinsko razkužili, izrezali tkivo na robu med zdravim in okuženim in ga prenesli na krompirjevo dekstrozno gojišče z dodanim antibiotikom (PDA+). Pri nadaljnjih morfoloških in molekularnih analizah ter umetnih inokulacijah smo uporabili enotrosne izolate, ki smo jih pridobili z osamitvijo posameznih kalečih trosov. Izolate smo shranili na poševnem krompirjevem dekstroznem gojišču (PDA) pri temperaturi 4° C, rastlinske dele z znamenji antraknoze pa kot herbarijski material.

Za identifikacijo dobljenih izolatov smo uporabili standardne mikroskopsko morfološke in molekulske tehnike. Izmerili smo velikost konidijev, ki so se razvili v deset dni starih kulturah na gojišču PDA, pri temperaturi 25° C in v temi. Konidije smo obarvali z anilinskim modrilom v laktoglicerolu. S prekrivanjem micelija s krovnimi stekelci smo pospešili tvorbo apresorijev, nato pa zabeležili njihovo velikost in obliko. Izmerili smo prirast kolonije med petim in devetim dnevom rasti na PDA gojišču, pri temperaturi 25° C in v temi. Pri deset dni starih kulturah smo zabeležili barvo micelija in pigmentacijo podlage ter jakost sporulacije. Iz micelija, namnoženega v tekočem gojišču, smo izolirali DNA s

pomočjo komercialnega kompleta BioSprint 15 DNA Plant Kit (Qiagen) in robota KingFisher mL (Thermo). ITS predel ribosomske DNA smo v verižni reakciji s polimerazo (PCR) namnožili z začetnima oligonukleotidoma ITS1 in ITS4 (White in sod., 1990). Dobljenim produktom smo določili nukleotidno zaporedje (Macrogen, Koreja), jih uredili in primerjali z drugimi zaporedji v javnih bazah s pomočjo orodja BLAST (Altschul in sod., 1997). V primerjavo smo vključili zaporedja referenčnih izolatov vrst *C. acutatum* (AF411700, FJ788417), *C. fiorinae* (EF464594), *C. simmondsii* (GU183331), *C. clavatum* (JN121126) in *C. gloeosporioides* (AJ749693, AJ749682), ki so bila objavljena v študijah Talhinhos in sod. (2002, 2005), Shivas in Tan (2009), Vinnere in sod. (2002) ter Faedda in sod. (2011).

Virulentnost izbranih izolatov smo preverili z umetno inokulacijo plodov. Poleg ameriških borovnic smo okužili še jagode, češnje in jabolka. Inokulum smo pripravili iz deset dni starih kultur, ki smo jih prelili s sterilno destilirano vodo in postrgali trose s površja kolonije. Zrele plodove smo površinsko razkužili z natrijevim hipokloritom (1-3 % raztopina), ranili povrhnjico in nanjo nanesli inokulum (7 µl suspenzije trosov v koncentraciji 1x10<sup>6</sup> konidijev / ml). Na kontrolne plodove smo po enakem postopku nanesli sterilno destilirano vodo. Inokulirane plodove smo deset dni inkubirali pri sobni temperaturi (22 – 25° C) in 100 % relativni vlažni, nato pa preverili pojav bolezenskih znamenj in opravili reizolacijo glive iz okuženih plodov.

V letih 2007 in 2008 smo v nasadu ameriških borovnic na Drenovem Griču, v katerem je antraknoza že dlje časa navzoča, naključno izbrali tri grme sorte Coville in z njih jemali vzorce za analizo. Vzorca smo enkrat mesečno, od začetka maja do konca avgusta 2007 ter v marcu in aprilu 2008. Vsakokrat smo na izbranih grmih odrezali po dva poganjka, dolga 15 – 25 cm. Posamezne rastlinske dele smo ločili, razrezali na nekaj mm velike segmente, površinsko razkužili v etilnem alkoholu (70 %, 1 minuta) in raztopini natrijevega hipoklorita (3 % aktivnega klora, 4 minute) ter položili na gojišče PDA+. Liste in poganjke smo razrezali na 20 – 30 delov, pecljevino na 5 -10, brste in plodove pa na dva do štiri dele. Ker so glive iz rodu *Colletotrichum* pogosto

navzoče v latentni obliki, smo opravili izolacijo tako iz simptomatičnih kot tudi iz navidez zdravih rastlinskih delov. Spomladi smo za izolacijo uporabili brste, ostanke pecljevine in poganjke, kasneje med rastno dobo pa liste (po dva lista na poganjek), plodove, pecljevino in poganjke (preglednica 1). Glive iz rodu *Colletotrichum*, ki so se po sedmih dneh inkubacije pri temperaturi 20° C in v temi razvile na obravnavanih rastlinskih delih, smo osamili v čisti kulturi in identificirali po zgoraj opisanem postopku. Okužbo posameznih organov in tkiv smo ovrednotili glede na pogostost izolacije gliv iz rodu *Colletotrichum* iz obravnavanih vzorcev.

### 3 REZULTATI IN DISKUSIJA

#### 3.1 Povzročiteljica antraknoze pri ameriških borovnicah

Analizo morfoloških in molekularnih značilnosti smo opravili pri 33 izolatih iz ameriških borovnic. Vsi izolati so pripadali rodu *Colletotrichum*. Na podlagi morfoloških karakteristik in primerjave nukleotidnih zaporedij dobljenih izolatov z zaporedji referenčnih izolatov smo ugotovili, da je povzročiteljica antraknoze pri ameriških borovnicah vrsta *C. fioriniae* (Marcelino & S. Gouli) R.G. Shivas & Y.P. Tan. Nukleotidna zaporedja ITS predela ribosomske DNA slovenskih izolatov so bila identična nukleotidnim zaporedjem tipskega primerka te glive (*C. fioriniae* EHS58).

Z umetnimi inokulacijami plodov različnih sadnih vrst smo potrdili virulentnost izolirane glive. Pri vseh inokuliranih plodovih je povzročila nastanek nekroz, velikost nekroz pa se ni razlikovala glede na sadno vrsto, kar kaže, da gliva *C. fioriniae* ni specializirana na posameznega gostitelja in je zmožna navzkrižnih okužb različnih sadnih vrst.

Opis morfoloških značilnosti glive *C. fioriniae*:

- Kolonije so v sredini svetlo do temno sive, ob robu svetlejšje, mestoma prekrte s kompaktnim sivim zračnim micelijem. Na spodnji strani so karminsko rdeče pigmentirane, opazne so tudi posamezne črne pege. Prirast kolonije med petim in devetim dnevom rasti na gojišču PDA in pri temperaturi 25° C je 22,5 do 28 mm. Sporulacija ni obilna, posamezni acervuli z oranžnimi gmotami trosov se oblikujejo le na robovih kolonije.
- Konidiji so enocelični, ozko eliptični, brezbarvni gladki in na konceh priostreni. Merijo 8,8 - 14,2 x 3,6 - 4,3 µm.
- Sete se ne pojavljajo.
- Apresoriji so kroglasti do rahlo nepravilni, veliki 6,5 – 8 x 5,5 – 7 µm.

Glivo so leta 2008 odkrili v ZDA; Marcelino in sodelavci (2008) so poročali o pojavu entomopatogene glive na kaparju *Fiorinia externa*, ki je povzročal obsežno sušenje čug na severovzhodu države. Iz mumificiranih kaparjev so izolirali glivo, ki je po morfoloških značilnostih ustrezala vrsti *C. acutatum*, a so jo zaradi njenega entomopatogenega značaja opisali kot posebno varieteto *C. acutatum* var. *fioriniae*. Hkrati so ugotovili, da gliva živi tudi kot endofit v 28 rastlinskih vrstah, ki so rasle v bližini napadenih čug. Kasneje sta Shivas in Tan (2009) glivo opisala kot samostojno vrsto *C. fioriniae*. Ekologija glive še ni podrobneje raziskana. Shivas in Tan (2009) navajata, da so njeni gostitelji avokado, mango in akacija, pri katerih povzroča gnilobo plodov ter ožige na poganjkih in listih. Pri nas gliva *C. fioriniae* okuži poleg ameriških borovnic še domači oreh, lesko, jablo, hruško, gozdno borovnico, veleplodno mahovnico (*Vaccinium macrocarpon*), pa tudi rododendron in nekatere druge okrasne vresovke (Munda in Gerič, 2011). Pri vseh povzročča za antraknozo značilna bolezenska znamenja na plodovih ali listih.

Zaradi zapletene taksonomije rodu *Colletotrichum* in podobnosti morfoloških značilnosti pri sorodnih vrstah je identifikacija povzročiteljev antraknoze težavna in zahteva uporabo tako morfoloških kot molekularnih tehnik. Velikost in oblika konidijev se pri posameznih vrstah oz. molekularnih skupinah prekrivata in nista uporabni za njihovo razlikovanje (Shivas in Tan, 2009). Najbolj zanesljivo jih lahko prepoznamo po nukleotidnem zaporedju ITS predela rDNK ter dela gena za β tubulin (Shivas in Tan, 2009). Razlikujejo se tudi po tvorbi pigmentov na gojišču PDA, vendar je pigmentacija pri posameznih izolatih iste vrste spremenljiva in odvisna od gojitvenih razmer, zlasti temperature (Shivas in Tan, 2009; Marcelino in sod., 2008).

Ekologija posameznih vrst, spekter njihovih gostiteljev in specializacija na posamezne gostiteljske vrste še nista podrobneje raziskana. Razumevanje pomena teh gliv pa otežuje tudi spoznanje, da žive posamezne vrste na

svojih gostiteljih kot epifiti, endofiti ali paraziti (Freeman in sod., 2001).

### 3.2 Epidemiologija bolezni

Življenjski cikel povzročiteljice antraknoze pri ameriških borovnicah in epidemiologija bolezni sta bila v zadnjih desetih letih predmet številnih študij (DeMarsay in Oudemans, 2002, 2003, 2004; Wharton in Diéguez-Uribeondo, 2004; Wharton in Schilder, 2003). V teh še niso upoštevali sodobnega taksonomskega koncepta rodu *Colletotrichum* in so kot povzročiteljico bolezni obravnavali vrsto *C. acutatum* s. l. Namen naše raziskave je bil ugotoviti mesto prezimovanja in identificirati vire okužbe z glivo *C. fioriniae*, ki v naših pridelovalnih razmerah povzroča antraknozo pri ameriških borovnicah. Oba dejavnika sta ključnega pomena za razumevanje bolezenskega cikla in načrtovanje varstvenih ukrepov zoper bolezni.

Z izolacijo glive *C. fioriniae* iz različnih rastlinskih delov smo ugotovili, da gliva okuži vse nadzemne dele gostitelja, razen listov (preglednica 1). Spomladi, še pred odganjanjem rastlin, smo glivo najpogosteje in v

največjem odstotku izolirali iz ostankov pecljevine in iz poganjkov z odmrli vršički. Ugotovili smo jo tudi v navidez zdravih poganjkih, vendar je bila pogostost izolacije iz le-teh manjša kot iz poganjkov z izraženimi bolezenskimi znamenji. V visokem odstotku smo glivo *C. fioriniae* izolirali tudi iz navidezno zdravih brstov. Skupno je bilo okuženih 36 odstotkov pregledanih brstov, na posameznem poganjku pa od 0 do 75 odstotkov. Cvetne in vegetativne brste smo obravnavali ločeno in ugotovili znatno večjo stopnjo okuženosti generativnih brstov v primerjavi z vegetativnimi.

V obdobju rasti smo glivo *C. fioriniae* izolirali iz vseh rastlinskih delov, ki so kazala znamenja okužbe, pa tudi iz navidez zdravih. V največjem odstotku smo jo izolirali iz simptomatičnih zrelih plodov. Izolirali smo jo tudi iz poganjkov z znamenji bolezni in iz porjavele pecljevine, vendar je bila pogostost izolacije iz teh vzorcev manjša kot pri plodovih. V tem obdobju smo glivo izolirali tudi iz navidezno zdravih poganjkov, pecljevine in zelenih jagod. Izolirali pa smo jo tudi iz navidezno zdravih brstov; okuženih je bilo 26 odstotkov pregledanih brstov.

#### Preglednica 1: Izolacija glive *C. fioriniae* iz okuženih ameriških borovnic

**Table 1:** Isolation of *C. fioriniae* from infected high-bush blueberry bushes

	Datum vzorčenja	Simptomi niso izraženi	Simptomi izraženi
Pecljevina	28. 8. 2007	12 %	18 %
	14. 3. 2008	NT	53 %*
Poganjki	8. 5. 2007	12 %	NT
	31. 7. 2007	10%	18 %
	28. 8. 2007	9 %	37 %
	14. 3. 2008	30 %	45 %
	10. 4. 2008	9 %	NT**
Generativni brsti	14. 3. 2008	35 %	NT
	10. 4. 2008	11 %	NT
Vegetativni brsti	14. 3. 2008	0 %	NT
	10. 4. 2008	8 %	NT
Listi	8. 5. 2007	0 %	NT
	10. 6. 2007	0 %	NT
	31. 7. 2007	0 %	NT
	28. 8. 2007	0 %	NT
	10. 6. 2007	27 %	NT
Zeleni plodovi	10. 6. 2007	27 %	NT
Zreli plodovi	31. 7. 2007	11 %	100 %

\* delež segmentov posameznega organa oz. tkiva, iz katerih je bila izolirana gliva *C. fioriniae*

\*\* ni podatka

Iz rezultatov sukcesivne izolacije glive *C. fioriniae* iz naravno okuženih ameriških borovnic lahko sklenemo, da je gliva v gostitelju navzoča tekom vse rastne dobe. Pogosteje smo jo izolirali iz organov in tkiv z izraženimi bolezenskimi znamenji kot iz navidezno

zdravih. V poganjkih z nekrozami in suhimi vršički ter v ostankih pecljevine gliva prezimi in se ohrani do naslednje rastne dobe. Pomembno mesto prezimovanja glive in vir primarnih okužb mladih tkiv pa so poleg

simptomatičnih rastlinskih delov tudi navidezno zdravi organi, zlasti poganjki in rodni brsti.

Kljub temu, da se rezultati naše raziskave nanašajo na glivo *C. fioriniae*, so primerljivi z rezultati raziskav okuženosti borovnic z glivo *C. acutatum* s. l., ki so jih pri ameriških borovnicah opravili DeMarsay in Oudemans (2002, 2003, 2004), Yoshida in sodelavci (2007) ter Verma in sodelavci (2006). V teh ugotavljajo, da se gliva *C. acutatum* s. l. v zimskem času ohrani v odmrlih poganjkih in pecljevini, poleg tega pa še v navidez zdravih brstih in poganjkih. Izolirali so jo iz lusk cvetnih brstov in skorje poganjkov, ni pa bila navzoča v notranjosti brstov in v ksilemu poganjkov (Yoshida in sod., 2007). Tudi v teh raziskavah so ugotovili, da je delež navidez zdravih, a okuženih cvetnih brstov velik in lahko pri občutljivih sortah doseže celo 73 odstotkov (DeMarsay in Oudemans, 2004). Nasprotno pa so vegetativni brsti okuženi v veliko manjši meri in zato manj pomembni pri širjenju okužbe na mlada tkiva (Verma in sod., 2006). Podobno tudi rezultati raziskav antraknoze pri drugih sadnih vrstah kažejo, da so generativni brsti pomemben vir okužb v naslednji rastni dobi (Børve in Stensvand, 2006; Børve in Stensvand, 2007). Tako na primer ugotavljajo, da je pri češnjah okuženih kar 55 % generativnih brstov in le 32 % vegetativnih (Børve in Stensvand, 2006). Spomladi se na okuženih delih

oblikujejo trosišča (acervuli) v katerih so trosi (konidiji), ki širijo okužbo na zdrava tkiva. Čas in trajanje sproščanja trosov sta odvisna od vremenskih razmer in od razvojne faze gostitelja. Opazni so trije viški sproščanja trosov, ki sovpadajo z obdobji močnejših okužb: prvi v času cvetenja, drugi v fazi zelenih plodov, tretji pa v času zorenja plodov (Verma in sod., 2007). Taka dinamika sporulacije glivi omogoči, da zanesljivo okuži plodove in naseli tkiva, v katerih nato prezimi. Okužbe so pogostejše, če je vreme deževno in so temperature zmerne; po tujih podatkih zadošča za okužbo že 11° C, če so občutljiva tkiva omočena vsaj 10 ur (Verma in sod., 2007). V zelenih plodovih ter navidezno zdravih poganjkih in brstih ostane okužba latentna in se bolezenska znamenja ne izrazijo. Pojavijo se šele, ko se spremenene razmere v okolju in fiziološko stanje gostitelja. Na plodovih se pokažejo šele ob zorenju. Tedaj gliva pride iz biotrofične v nekrotrofično fazo, agresivno preraste plod ter oblikuje trosišča in trose, ki širijo okužbo na plodove in druge občutljive organe in tkiva (Wharton in Diéguez-Uribeondo, 2004). Simptomatični plodovi se osujejo z grmov na tla, kjer kmalu razpadejo. Po podatkih tujih raziskovalcev gliva v odpadlih plodovih ne more prezimiti, zato ti niso pomembni za širjenje okužb v naslednji rastni dobi (Verma in sod., 2006).

#### 4. SKLEPI

Povzročiteljica antraknoze v nasadih ameriških borovnic na Ljubljanskem barju je gliva *C. fioriniae*. Je ena izmed novo opisanih vrst iz kompleksa *C. acutatum* s.l. Sprva so jo opisali kot entomopatogeno glivo, kasneje pa ugotovili, da živi kot endofit in parazit v številnih rastlinskih vrstah. Pri nas je razmeroma pogosta povzročiteljica antraknoze na sadnem drevju in jagodičevju.

Iz številnih tujih epidemioloških študij antraknoze pri ameriških borovnicah je znano, da so odmrli vršički poganjkov in ostanki pecljevine primarna mesta prezimovanja povzročiteljice bolezni in pglavitni viri spomladanskih okužb mladih tkiv. Obseg bolezni v naslednji rastni dobi je v veliki meri odvisen od

preživetja glive v času mirovanja. Od načina prezimovanja glive pa je odvisna tudi strategija varstva pred boleznijo. Rezultati naše raziskave potrjujejo, da povzročiteljica antraknoze tudi v naših pridelovalnih razmerah najpogosteje prezimuje v simptomatičnih poganjkih in ostankih pecljevine, kjer se spomladi oblikuje inokulum za okužbo cvetov. Ugotovili smo še, da gliva naseli navidezno zdrave poganjke in brste ter prezimi tudi v njih. Na podlagi dobljenih rezultatov ugotavljamo, da so brsti, zlasti rodni, skrit, a zelo pomemben vir primarnih okužb mladih tkiv ameriških borovnic. Kako se brsti okužijo in v kakšni obliki gliva v brstih prezimi, še ni podrobneje znano in ostaja predmet nadaljnjih raziskav.

#### 5 ZAHVALA

Aleksandri Podboj Ronta se zahvaljujem za pomoč pri terenskem in laboratorijskem delu.

Raziskave so bile opravljene v okviru Ciljnega raziskovalnega projekta V4-0528 Antraknoza pri

sadnem drevju in jagodičju: značilnosti povzročiteljev, epidemiologija bolezni in možnosti okolju sprejemljivejših načinov varstva, ki sta ga financirala ARRS in Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS.

## 6 VIRI

- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W.I., Lipman, D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-402.
- Arx, J.A. von 1957. Die Arten der Gattung *Colletotrichum*. *Phytopathologische Zeitschrift* 29: 414-468.
- Børve, J., Stensvand A. 2006. *Colletotrichum acutatum* overwinters on sweet cherry buds. *Plant Disease* 90: 1452 – 1456.
- Børve, J. Stensvand, A. 2007. *Colletotrichum acutatum* found on apple buds in Norway. *Plant Health Progress* 1-3, doi:10.1094/PHP-2007-0522-01-RS.
- Brown, A.E., Sreenivasaprasad, S., Timmer, L.W. 1996. Molecular characterization of slow-growing orange and key lime anthracnose strains of *Colletotrichum* from citrus as *C. acutatum*. *Phytopathology* 86: 523 -527.
- Daykin M.E., Milholland R.D. 1984. Infection of blueberry fruit by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease* 68: 948–50.
- DeMarsay, A., Oudemans, P.V. 2002. Reservoirs of *Colletotrichum acutatum* in dormant and growing highbush blueberry. *Phytopathology* 92:S143.
- DeMarsay, A., Oudemans, P.V. 2003. *Colletotrichum acutatum* infections in dormant highbush blueberry buds. *Phytopathology* 93:S20.
- DeMarsay A., Oudemans, P.V. 2004. Overwintering behavior of *Colletotrichum acutatum* in dormant highbush blueberry. *Phytopathology* 94:S142.
- Faedda R., Agosteo G.E., Schena L., Mosca S., Frisullo S., Magnano di San Lio G., Cacciola S.O. 2011. *Colletotrichum clavatum* sp. nov. identified as the causal agent of olive anthracnose in Italy. *Phytopathologia Mediterranea* 50 (2): 283-302.
- Freeman, S., Horowitz, S., Sharon, A. 2001. Pathogenic and nonpathogenic lifestyles in *Colletotrichum acutatum* from strawberry and other plants. *Phytopathology* 91: 986–992.
- Freeman, S., Katan, T. 1997. Identification of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose and root necrosis of strawberry in Isarel. *Phytopathology* 87: 516 – 521.
- Hartung, J.S., Burton, C.L., Ramsdell, D.C., 1981. Epidemiological studies of blueberry anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology* 71: 449–53.
- Hyde, K.D., Cai, L., Cannon, P.F., Crouch, J.A., Crous, P.W., Damm, U. Goodwin, P.H., Chen, H., Johnston, P.R., Jones, E.B.G., Liu, Z.Y., McKenzie, E.H.C., Moriwaki, J., Noireung, P., Pennycook, S.R., Pfenning, L.H.,
- Prihastuti, H., Sato, T., Shivas, R.G., Taylor, P.W.J., Tan, Y.P., Weir, B.S., Yang, Y.L., Zhang, J.Z. 2009. *Colletotrichum* – names in current use. *Fungal Diversity* 39: 147-182.
- Marcelino, J., Giordano, R., Gouli, S., Gouli, V., Parker, B.L., Skinner, M., TeBeest, D., Cesnik, R. 2008. *Colletotrichum acutatum* var. *fioriniae* (teleomorph: *Glomerella acutata* var. *fioriniae* var. nov.) infection of a scale insect. *Mycologia* 100 (3): 353-374.
- Milholland R.D. 1995. Anthracnose fruit rot (ripe rot). V: Compendium of blueberry and cranberry diseases. St. Paul, Min., Aps Press.: 87 str.
- Munda, A., Gerič Stare, B., 2011. Glive iz rodu *Colletotrichum*, povzročiteljice antraknoze na sadnem drevju in jagodičju v Sloveniji. V: Zbornik predavanj in referatov 10. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Podčetrtek, 1.-2- marec 2011. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 57-61.
- Munda, A., Žerjav, M. 2006. Diseases of high-bush blueberry in integrated production plantations in Slovenia. *IOBC/WPRS Bulletin* 29 (9): 81-86.
- Shivas, R.G., Tan, Y.P. 2009. A taxonomic re-assessment of *Colletotrichum acutatum*, introducing *C. fioriniae* comb. et. stat. nov. and *C. simmondsii* sp. nov. *Fungal Diversity* 39: 111-122.
- Sreenivasaprasad, S., Talhinhas, P. 2005. Genotypic and phenotypic diversity in *Colletotrichum acutatum*, a cosmopolitan pathogen causing anthracnose on a wide range of hosts. *Molecular and plant pathology* 6: 361–378.
- Sutton, B.C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. V: *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Wallingford, CAB International: 1-26.
- Talgø, V., Aamot, H.U., Strømeng, G.M., Klemsdal, S.S., Stensvand, A. 2007. *Glomerella acutata* on highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) in Norway. *Plant Health Progress*:1-5, doi:10.1094/PHP-2007-0509-01-RS
- Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Neves-Martins, J., Oliveira, H. 2002: Genetic and morphological characterisation of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of lupins. *Phytopathology* 92: 986–996.
- Talhinhas P., Sreenivasaprasad, S. Neves-Martins, J., Oliviera, H. 2005. Molecular and phenotypic analyses reveal association of diverse *Colletotrichum acutatum* groups and a low level of *C. gloeosporioides* with olive anthracnose. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 2987–2998.
- Verma, N., Macdonald, I., Punja, Z.K. 2006. Inoculum prevalence, host infection and biological control of *Colletotrichum acutatum*. *Plant Pathology* 55 (3): 442 – 450.
- Verma, N., MacDonald, L., Punja, Z. K. 2007. Environmental and host requirements for field infection of blueberry fruits by *Colletotrichum acutatum* in British Columbia. *Plant Pathology* 56: 107-113.
- Vinnere, O., Fatehi, J., Wright, S.A.I., Gerhardson, B. 2002. The causal agent of anthracnose of *Rhododendron* in Sweden and Latvia. *Mycological Research* 106: 60-69.

- Wharton P.S., Diéguez-Uribeondo, J. 2004. The biology of *Colletotrichum acutatum*. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 61(1): 3-22.
- Wharton, P.S., Schilder, A.M.C. 2003. Infection and colonization of blueberry fruit by *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology* 93: S90.
- White, T.J., Bruns, T.D., Lee, S., Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: a guide to methods and applications*, San Diego, Academic Press: 315–322.
- Yoshida S., Tsukiboshi T. 2002. Shoot Blight and Leaf Spot of Blueberry Anthracnose Caused by *Colletotrichum acutatum*. *Journal of General Plant Pathology* 68 (3): 246-248.
- Yoshida, S. Tsukiboshi, T. Shinohara, H. Koitabashi, M. Tsushima, S. 2007. Occurrence and development of *Colletotrichum acutatum* on symptomless blueberry bushes. *Plant Pathology* 56: 871-877.