

ПАТОЛОШКИ ОСОБИНИ НА ГАБАТА *ALTERNARIA ALTERNATA*

Биљана Гвероска, Петре Ташкоски

Институт за тутун - Прилеп

ВОВЕД

Настанувањето на една растителна болест зависи пред сè од присуството на паразитот и на домаќинот како клучни моменти при патогенезата, односно од инфективноста на паразитот и приемливоста на растението кон тој паразит. Но, тоа зависи и од други бројни фактори, кои имаат посебно значење за одделните фази на остварување на инфекцијата и појава на симптомите на болеста.

Патолошките особини на еден патоген агенс се битен елемент при проучувањето на болестите. Тие се значајни за почетните фази на патогенезата, до појавата на видни надворешни промени кај растенијата, но и за остварување на примарниот циклус на зараза.

Поради тоа, проучувањето на патолошките особини на габата *Alternaria alternata* - предизвикувач на болеста кафена дамкавост кај тутунот е од особен интерес пред сè за фитопатолошката наука, а потоа и за решавање на проблемите поврзани со оваа болест.

Кафената дамкавост кај тутунот е една од габните болести чие присуство предизвикува штети главно по квалитетот на тутунот. Болните тутунски листови се со лош квалитет и имаат непријатна арома која се задржува и при фабрикацијата на тутунската суровина. Со зголемување на интензитетот на болеста се зголемува никотинот од 21-31%, опаѓаат редуцирачките шеќери до 1%, а полнежниот капацитет се зголемува за 51% во споредба со здравиот тутун (Karunakara et al., 1998).

Присуството на *A. alternata* влијае врз својствата на чадот, кој е доказ за квалитетот на цигарите, односно суровината (Main и Chaplin, 1971, цит. по Rotem, 1994).

Штетите можат да бидат уште поголеми, бидејќи е потврдено дека покрај тутунот, нејзиниот причинител паразитира и на други растителни видови како доматот, пиперката, компирот, модриот патлиџан (Јованчев, 1997).

Констатирано е дека *A. alternata* кај

тутунот може успешно да се одржува до наредната вегетациона сезона како мицелија и конидии (Гвероска, 2007).

Rotem (1994) посветил големо внимание на проучувањето на родот *Alternaria*. Според него, конидиите на *Alternaria* се специфичен феномен. За разлика од повеќето патогени каде спорите припоени до конидиофорите подобро опстојуваат од одделените, кај нив процентот на ртење не е драстично помал за разлика од тие кои се чувани свежи. Старите спори кај *Alternaria* ја зачувуваат својата инфективност многу подолго време за разлика од другите патогени, пр. кај доматот.

Инкубациониот период за појава на болеста е многу краток. Инфекцијата во природни услови настанува во кратки интервали на влажење во ноќта, прекинувано со суви денови. Ртењето на конидиите започнува при првата влажна ноќ, запира наредниот ден и повторно продолжува наредната влажна ноќ и тој процес се повторува се додека ркулечката цевка не навлезе во домаќинот. Тоа е наречено WP механизам. Не сите *Alternaria* видови можат да го користат овој механизам. Но, меѓу проучуваните кои имаат способност за користење на WP механизмот е *A. alternata* кај тутунот (Basu and Rotem, 1974, цит. по Rotem, 1994).

Инкубациониот период за *A. alternata* кај тутунот го испитувале Stavely и Slana (1971, 1975), како и Lacey (1992).

Симптомите на болеста се опишани од повеќе автори, а во Македонија за нив пишува Мицковски (1977). Како домаќини се наведуваат повеќе културни, но и плевелни видови (Gabarkiewicz-Szczesna и Chelkowski, 1992).

Поради наведеното, во ова истражување си поставивме цел да ги проучиме инкубациониот период, симптомите на болеста при вештачка инокулација, кругот на домаќини и способноста за формирање на хламидоспори на патогенот *A. alternata*.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Проучувањето на патолошките особини на габата *Alternaria alternata* - инкубациониот период и симптомите на болеста при вештачка инокулација ги испитувавме со инокулација на растенија од неколку сорти тутун актуелни во моментното производство (Табела 1).

Растенијата од испитуваните сорти беа расадени во саксии полни со земја и стерилизирано арско губре во однос 2:1 и одгледувани во биолошка лабораторија, во услови на неконтролирана температура,

влажност и светлина. Истите растенија беа инокулирани со суспензија од конидии на следниот начин:

Се користеше култура стара 10-15 дена, одгледана на компирдекстрозна подлога на температура од 25°C, која е првпат пресечена по изолирањето. Суспензијата беше приготвена со "стружење" на мицелијата со конидии од површината на подлогата, миксирање со стерилна дестилирана вода (50 ml на една петриева кутија) и филтрирање на конидиите преку двоен слој од стерилна газа.

Табела 1. Испитувани сорти тутун

Table 1. Investigated tobacco varieties

Еколошка група Ecological group	Тип Type	Сорта Variety
ориенталски oriental	прилеп Prilep	П 23 P 23
	јака Yaka	Јв 125/3 Jv 125/3
полуориенталски semi-oriental	отља Otlia	О 110 88/3 O 110 88/3
	вирџинија virginia	МВ 1 MV 1
крупнолисни large -leaf	берлеј Burley	Б 2/93 B 2/93

Најпрвин растенијата беа наранувани со карборундум, прскани со 1% раствор на гликоза, а потоа со приготвената суспензија. Инокулираните растенија се покривани со полиетиленски кеси и чувани во биолошка лабораторија, во неконтролирани услови 10 дена.

За утврдување на инкубациониот период беше следена појавата на првите симптоми на болеста кај една контролна група од вкупниот број инокулирани растенија.

Интензитетот на напад по инкубациониот период се одредуваше со користење на шестстепената скала од 0 до 5 и примена на методот на Mc-Kiney (Гвероска, 2006).

За утврдување на кругот на домаќини беа расадени повеќе плевелни видови најчесто присутни во тутунските насади, дивите

видови тутун: *N. glutinosa*, *N. longiflora*, *N. vigandioides*, *N. excelsior* и *N. texana*, и други културни растенија како домот, модар патлиџан, компир и пиперка. Тие беа инокулирани на истиот начин како и тутунските растенија.

Формирањето на хламидоспори беше следено при услови на многу ниски температури, односно во културите инкубирани на ниски температури (1 до 2°C), а потоа подолг период чувани во фрижидер на температура 3-5°C, или во замрзнувач на температура -20 до -23°C.

Микроскопските мерења се вршеа со помош на окулармикрометар, по претходно баждарење и одредување на факторот на соодветното зголемување според методата на Зибероски (1998). Мерени беа случајно избрани примероци при микроскопирањето на 3-5 приготвени препарати од секој изолат.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Инкубационен период

При истражувањата беше констатирано дека инкубациониот период за габата *A. alternata* кај тутунот изнесува 2 дена,

односно 48 - 50 часа. Интензитетот на болеста по овој период е прикажан во Табела 2.

Табела 2. Интензитет на болеста по инкубациониот период
Table 2. Intensity of attack after the period of incubation

Сорта/Variety	Процент на заболени листови Diseased leaves in %	Интензитет на болеста (%) Intensity of attack (%)	Просечна големина на дамките(mm) Average size of the spots (mm)
МВ 1/ MV 1	40,91	10,60	2,17
Б 2/93 В 2/93	28,57	9,69	2,43
О 110 88/3 О 110 88/3	35,71	7,93	1,89
ЈВ 125/3 Јв 125/3	34,88	9,52	2,37
П 23 / P 23	22,58	6,45	2,10

Интензитетот на болеста има вредност од 6,45 до 10,60%, а просечната големина на дамките се движи од 1,89 до 2,43 mm.

Се забележува дека и покрај тоа што симптомите се појавиле во исто време, постои разлика во интензитетот на болеста кај испитуваните сорти, што значи дека, се-пак, инфекцијата се ширела побрзо или по-бавно, во зависност од тутунската сорта. Кај големината на дамките, по инкубациониот период не се забележуваат поголеми разлики.

По извршената инфекција габата создава нови конидии, со што се создаваат услови за нови инфекции и зголемување на интензитетот на болеста. Но, условите во по-

ле не се така идеални како при вештачките инокулации. Тука постои склоп на фактори, пред сè времетраењето на влажниот период и температурата кои доста варираат од ден во ден. Поради тоа и болеста во поле не се јавува во така идеални временски периоди како при вештачката инокулација, при која се обезбедени сите услови за развој на патогенот. Сепак, патолошките особини на оваа габа се во прилог на остварување на инфекцијата.

За појава на болеста кај тутунот во полски услови потребни се неколку последователни влажни ноќи, бидејќи *A. alternata* кај тутунот има способност за користење на WP механизмот (Rotem, 1994).

Симптоми на болеста при вештачка инокулација

Симптомите на болеста кај тутунот се препознатливи по кафените дамки, поради што оваа болест го добила името "кафена дамкавост".

Најпрвин се појавуваат ситни дамки со отворенозелена или жолта боја, со строго дефинирани граници. Со проширување на дамките нивните центри стануваат кафени. При многу влажни периоди во центарот се појавуваат конидиофорите со конидии, формирајќи црна правлива навлака. Дамките се со различна големина, што зависи од еколошките услови, како и осетливоста на сортите.

Околку дамките се формира жолтеникава, хлоротична зона со различна големина. Главна особина која ја обележува алтернариозата се концентричните прстени во дамките.

Симптомите најпрвин се забележуваат на долните и се шират кон врвните листови на тутунското растение (Сл. 1). Исто така, болеста се проширува на цветовите, семенските чушки и на филизите.

Првите симптоми на болеста при вештачката инокулација беа забележани по инкубациониот период, односно по 48-50 часа. Дамките кои први се појавија беа покрупни, но во мал број, а со одминувањето на времето стануваа поситни, во поголем број.

Во почетокот се забележуваа поединечни дамки, по неколку на лист, а поретко, во зависност од сортата, 20-25 дамки. Со одминувањето на времето, околу дамките се појавува хлоротична зона, која кај постарите листови или кај поосетливите сорти е поголема (Сл. 2).

При вештачките инокулации поретко се забележува спојување на дамките. Тие обично остануваат поединечни, со големина која зависи од онтогенетската возраст на самиот лист. Кај подолните листови се јавуваат во многу поголем број и поситни, а

на погорните листови дамките се поголеми, но малку на број (Сл. 3). Исто така, концентричните прстени послабо се забележуваат поради различните, односно континуирани услови при вештачката инокулација.



Сл 1. *A. alternata* - Нападнати тутунски растенија
Ph 1. *A. alternata* - Infected tobacco plants



Сл 2. *A. alternata* - Симптоми на болеста кафена дамкавост при вештачка инокулација
Ph 2. *A. alternata* - Symptoms of the brown spot disease in artificial inoculation

Симптомите на болеста при вештачката инокулација ги следевме на неколку сорти од ориенталски, полу-ориенталски и крупнолисни тутуни. Кај сите сорти беа забележани слични симптоми (Сл. 3-5).

Од заболените листови беше вршена реизолација на габата и повторна инокулација на тутунските растенија. Појавените симптоми беа како и претходните, а конидиите одговараа на оние од изолатот со кој беше вршена инокулацијата.



Сл 3. *A. alternata* - Симптоми на болеста при вештачка инокулација на сортата МВ 1
Ph 3. *A. alternata*-Symptoms of the brown spot disease in artificial inoculation of the variety MV 1



Сл 4. *A. alternata* - Симптоми на болеста при вештачка инокулација на сортата П 23
Ph 4. *A. alternata* - Symptoms of the brown spot disease in artificial inoculation of the variety P 23



Сл 5. *A. alternata*-Симптоми на болеста при вештачка инокулација на сортата Јв125/3
Ph 5. *A. alternata* - Symptoms of the brown spot disease in artificial inoculation of the variety Jv125/3

Круг на домаќини

Резултатите од истражувањата извршени со вештачка инокулација на повеќе растителни видови се прикажани на Табела 3 и Сл 6-8.

Може да се види дека домаќини на патогената габа *A. alternata* можат да бидат пиперката, домотот, модриот патлиџан и компирот, но и најчестите плевелни видови кои се јавуваат во тутунските насади. Кај нив беа забележани симптоми на кафената дамкавост и во полски услови. Но, при инокулацијата на пет диви видови на тутун, симптомите беа забележани само кај *N. glutinosa* и *N. texana*.

Испитувањето на кругот на домаќини е значајно од аспект на тоа што голем дел од плевелите или нивните растителни остатоци остануваат по вегетацијата и служат за

презимување на габата, поради што претставуваат примарен инокулум во наредната вегетациона сезона. Исто така, често пати расадувањето на тутунот се врши на површини на кои претходно биле одгледувани наведените култури, поради што доаѓа до акумулација на инокулумот, па тутунските растенија можат да заболат веќе на долните инсерции, наскоро по расадувањето.

Испитувањето на дивите видови тутун е особено интересно бидејќи тие пружаат можност за нивно вклучување во селекцијата на тутунот со оглед на нивната отпорност кон повеќе болести. Со овие испитувања треба да се продолжи и понатаму, за да се добијат конкретни сознанија за одделни диви видови тутун и нивната реакција кон предизвикувачот на болеста кафена дамкавост.

Табела 3. Круг на домаќини
Table 3. Host plant range

Растение Plant	Инфекција / Infection			
	Изолат / Isolate			
	МБ 136 MB 136	МБ 115 MB 115	МБ 153 MB 153	МБ 182 MB 182
пиперка / pepper	+	+		
компир / potato	+	+		
домат / tomato	+	+		
модар патлиџан / eggplant	+			+
<i>Echinocloa crus-galii</i>	+			
<i>Digitaria sanguinalis</i>	+			
<i>Chenopodium album</i>	+			
<i>Amaranthus retroflexus</i>	+			
<i>Datura stramonium</i>	+		+	
<i>N. glutinosa</i>	+	+		
<i>N. longiflora</i>	-			
<i>N. vigandioides</i>	-			
<i>N. excelsior</i>	-			
<i>N. texana</i>	+			

+ - појава на симптоми (инфекција) / appearance of symptoms (infection)

- - нема појава на инфекција / no infection

Сл 6. *A. alternata*- Вештачка инокулација на компир
Ph 6. *A. alternata* - Artificial inoculation of potato





Сл 7. *A. alternata*- Вештачка инокулација на домати
Ph 7. *A. alternata* - Artificial inoculation of tomato



Сл 8. *A. alternata*- Вештачка инокулација на *N. glutinosa*
Ph 8. *A. alternata* - Artificial inoculation of *N. glutinosa*

Одржување и способност за формирање на хламидоспори

По завршувањето на вегетационата сезона, *A. alternata* може да се одржува подолго време врз растителните остатоци, односно паднатите тутунски листови, семето, тутунските растенија, како и плевелите. Таа презимува во форма на мицелија и конидии. Нејзина успешна изолација од зачуваниот материјал е вршена и по 12 месеци, а исто така конидиите ја задржуваат својата виталност и при погодни услови започнуваат да ртат по неколку часа.

Во овие истражувања констатиравме дека таа има способност за формирање на

хламидоспори, што ја потврдува нејзината способност за ваков начин на презимување.

A. alternata формира хламидоспори во културите инкубирани на ниски температури (1 до 2°C), а потоа подолг период чувани во фрижидер на температура 3-5°C, или во замрзнувач на температура -20 до -23°C.

Големината на хламидоспорите на температура од 3-5°C се движи од 8,40 до 9,60 µm, односно нивната просечна големина изнесува 9,11 µm. Хламидоспорите во културите чувани на пониски температури се поголеми и просечно изнесуваат 11,09 µm (Табела 4).

Табела 4. Големина на хламидоспорите
Table 4. Size of the chlamydo spores

Температура Temperature	3-5 °C		-20 - 23 °C	
	од -до range	просечна големина(µm)	од -до range	просечна големина(µm)
МБ 157 MB 157	8,00-12,00	9,33	10,00-14,40	11,04
МБ 179 MB 179	8,00-12,00	9,60	8,00-12,00	11,20
П 163 P 163	8,00-10,00	8,40	8,00-12,00	11,04
Просек Average	8,00-12,00	9,11	8,00-14,40	11,09

Исто така беше забележано формирање на хламидоспори во стари култури кои при честото пресејување ја изгубија спо-

собноста за спорулација. Нивната големина кај испитуваниот изолат PJ 70 изнесуваше 10,00-20,00 µm, односно просечно 14,76 µm.

ЗАКЛУЧОЦИ

- Инкубациониот период за габата *Alternaria alternata* кај тутунот изнесува 2 дена, односно 48-50 часа.
- Симптомите при вештачка инокулација се слични на тие кај природно инфицираните тутунски растенија.
- Домаќини на габата можат да бидат повеќе културни растителни видови, како доматиот, модриот патлиџан, пиперката и компирот, најчесто застапените плевелни видови во тутунските насади, како и дивите видови тутун *N. glutinosa* и *N. texana*.

- *A. alternata* формира хламидоспори при неповолни услови за нејзин развој. Тие придонесуваат таа да се одржи подолго време, но и за појава на примарните инфекции.
- Проучувањето на патолошките особини на габата е од посебно значење при следењето на условите за појава на примарните како и на секундарните инфекции во текот на вегетацијата, односно има големо значење за контрола на појавата и развојот на болеста во соодветните услови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гвероска Б., Ташкоски П., 2006. Реакција на тутунските сорти кон болеста кафена дамкавост. Тутун / Tobacco, Vol.56, No 7-8, 138-146.
2. Гвероска Б., Ташкоски П., 2007. Фактори кои влијаат врз појавата и ширењето на болеста кафена дамкавост. Тутун/ Tobacco, Vol. 75, No 9-10, 209-216.
3. Grabarkiewicz-Szczesna and Chelckowski J. / Chelckowski J. and Wisconti A., 1992. Alternaria Biology, Plant Diseases and Metabolites. Elsevier, Amsterdam-London-New York-Tokyo, p. 363-380.
4. Јованчев П., 1997. Проучување на алтернариозите *Alternaria solani*-Sorauer i *Alternaria alternata* (Fries) Keissler кај домотот и мерки за нивно сузбивање во Македонија. Докторска дисертација, Универзитет "Св."Кирил и Методиј" - Скопје.
5. Karunakara K. M., Shenoj M.M., Sreenivas S.S., 1998. Assessment of crop loss due to brown spot disease in FCV tobacco. IPS Symposium. Dec., UAS Bangalore, India.
6. Lacey J./ Chelkowski J. and Wisconti A., 1992. Alternaria Biology, Plant Diseases and Metabolites. Elsevier, Amsterdam-London-New York-Tokyo, p. 381-407.
7. Мицковски Ј., 1977. Кафени дамки на тутунот. Тутун / Tobacco, No 5-6, 269-280.
8. Rotem J., 1994. The genus Alternaria. APS PRESS. St. Paul, Minnesota.
9. Stavelly J.R. and Slana L.J., 1971. Relation of leaf Age to the Reaction of Tobacco to Alternaria alternata. Phytopathology 61:73-78.
10. Stavelly J.R. and Slana L.J., 1975. Relation of Postinoculation Leaf Wetness to Initiation of Tobacco Brown Spot. Phytopathology 65:897-901.
11. Зибероски Ј., 1998. Практикум по микробиологија. Универзитет "Св. Климент Охридски" Земјоделски факултет, Скопје.

PATHOLOGICAL PROPERTIES OF THE FUNGUS *ALTERNARIA ALTERNATA*

B. Gveroska, P. Taskoski
Tobacco Institute-Prilep

SUMMARY

Investigations were made on pathological properties of the fungus *A. alternata*, which are of special importance for the appearance of primary and secondary infections during the period of growth.

Determination of incubation period and monitoring of disease symptoms were made by artificial inoculation of several tobacco varieties. Formation of chlamydo spores was tested under laboratory conditions.

Incubation period for appearance of the disease was 2 days, i.e. 48 - 50 hours. Symptoms appearing in artificial inoculation were similar to those in naturally infested tobacco plants.

Host range of the fungus includes a number of cultivated plant species, as tomato, eggplant, pepper and potato, the most frequently represented weeds on tobacco fields and wild tobacco species *N. glutinosa* and *N. texana*.

A. alternata creates chlamydo spores under conditions unfavorable for its development, i.e. prolonged exposure to very low temperatures. The average chlamydo spores size at a temperature of 3 - 5°C is 9.11 μm. Chlamydo spores in crops kept under lower temperatures are somewhat larger and usually range about 11.09 μm.

Key words: *Alternaria alternata*, incubation period, artificial inoculation, host range,

Authors` s address:
Biljana Gveroska
Tobacco Institute - Prilep
Republic of Macedonia