

Ochrona

WYSTĘPOWANIE ZARODNIKÓW GRZYBÓW Z RODZAJU *ALTERNARIA* W SEZONACH WEGETACYJNYCH 2013-2016

INCIDENCE OF THE *ALTERNARIA* SPP. SPORES IN THE VEGETATION SEASONS 2013-2016

mgr inż. Hanna Gawińska-Urbanowicz, mgr Anna Łozowska, dr inż. Jerzy Osowski
IHAR-PIB Oddział w Boninie, Pracownia Ochrony Ziemniaka
e-mail: h.gawinska@wp.pl

Streszczenie

Od kilkunastu lat coraz większego znaczenia gospodarczego w uprawach ziemniaka nabierają grzyby *Alternaria alternata* i *A. solani*, sprawcy alternariozy ziemniaka. W miarę rozwoju choroby stosunek ilościowy, w jakim występują oba gatunki, jest zmienny i zależy m.in. od terminu i regionu występowania. Ocenę zmian sezonowych w składzie populacji grzybów w latach 2013-2016 przeprowadzono w Boninie na materiale zebranych z pułapek Burkarda, zlokalizowanych w sąsiedztwie plantacji ziemniaka. Największy wysyp zarodników konidialnych zarejestrowano w lipcu i sierpniu. W zebranej populacji dominowały zarodniki *A. alternata*. Masowy nalot zarodników notowano podczas przedłużających się okresów z wyższą dobową temperaturą powietrza i przemiennie występującymi opadami deszczu. Dobowa okresowość rozprzestrzeniania się zarodników wskazywała szczyt ich pojawu głównie nocą do wczesnych godzin rannych.

Słowa kluczowe: alternarioza, Burkard Manufakturing, gatunki *Alternaria*, stężenie zarodników, urządzenie pomiarowe, ziemniak

Abstract

For over a dozen years, fungi *Alternaria alternata* and *A. solani*, the perpetrators of potato alternariosis, has become increasingly important in potato cultivation. As the disease develops, the quantitative ratio in which both species occur is variable and depends both on the date, and the region of occurrence. The evaluation of changes in the fungal population in 2013-2016 was carried out in Bonin on material collected from Burkard traps, located in the vicinity of a potato plantation. The largest volume of conidial spores was registered in July and August. Spores of *A. alternata* dominated in the collected population. Mass spore flares were recorded during prolonged periods with higher daily air temperature and alternating rainfall. The daily periodicity of spore propagation indicated the peak of their appearance mainly at night until the early morning hours.

Keywords: alternariosis, *Alternaria* species, Burkard Manufakturing, concentration of spores, measuring device, potato

Zmiany w populacjach patogenów odpowiedzialnych za wywoływanie chorób na roślinach ziemniaka stwarzają różnorodne problemy w uprawie. Od kilkunastu lat coraz większego znaczenia gospodarczego w uprawach ziemniaka nabierają grzyby z rodzaju *Alternaria*, sprawcy alternariozy ziemniaka. Choroba częściej pojawia się w tych rejonach, w których występuje

wysoka temperatura oraz przemiennie okresy suchej i wilgotnej pogody. Dodatkowo infekcjom sprzyjają czynniki, które wpływają na osłabienie roślin na polu. Alternarioza to choroba części nadziemnych i bulw, której obecność na plantacjach przypisuje się przede wszystkim dwóm gatunkom: *Alternaria solani* i *A. alternata* (Kapsa, Osowski 2004; Hausladen, Leiminger 2007, Tsedaley 2014; Koka-

eva i in. 2015). Jednak coroczne badania dotyczące złożonego problemu alternariozy nie zawsze dają jednoznaczną odpowiedź, który z grzybów jest główną przyczyną rozwoju choroby. Spoelder i inni (2014) donoszą, że *A. alternata* nie powoduje martwych plam na roślinie. Z uwagi na wysokie stężenie w powietrzu często stwierdzamy jednak jego obecność w zmienionych chorobowo miejscach, choć nie jest on wówczas czynnikiem chorobotwórczym. Podobnie jest w badaniach Stammler i innych (2014), które dowodzą jedynie wtórnej obecności grzyba *A. alternata* w miejscach zmienionych chorobowo.

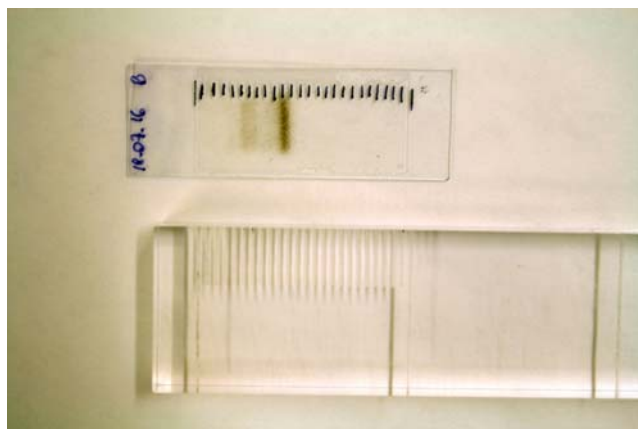
Z uwagi na zmienność sezonową udziału *A. alternata* i *A. solani* w bioaerozolu od kilku lat prowadzi się monitorowanie populacji sprawców alternariozy na ziemniaku i ich wpływu na zdrowotność.

Materiał i metody

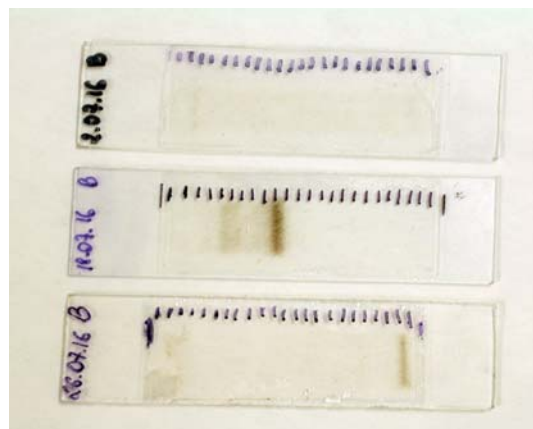
Stężenie zarodników konidialnych grzybów z rodzaju *Alternaria* w powietrzu badano w latach 2013-2016 w Boninie (woj. zachodniopomorskie). Skład gatunkowy populacji grzybów monitorowano z wykorzystaniem

wolumetrycznej pułapki Burkarda (Burkard Manufacturing Co Ltd), aparatu wyprodukowanego na podstawie prototypu Hirsta (1952). Metody wolumetryczne polegają na pobieraniu próby powietrza o określonej objętości przez wlot urządzenia i osadzeniu jej na taśmie zamontowanej w jego wnętrzu.

Użyta w doświadczeniach siedmiodniowa pułapka wolumetryczna, umieszczona ok. 40 m od plantacji ziemniaka, w aktywny sposób zasysa przez wąskie wcięcie powietrze wraz ze znajdującymi się w nim cząstkami biologicznymi (np. zarodnikami grzybów, pyłkami roślin). Zassany materiał osadza się na umieszczonej w środku urządzenia pokrytej wazeliną taśmie, która obraca się na bębnie z prędkością 2 mm na godzinę. Po tygodniu taśmę wyjmuje się i tnie na odcinki długości 48 mm, co odpowiada 24 godzinom pracy pułapki (fot. 1). Z odcinków taśmy przygotowuje się trwałe preparaty do analiz mikroskopowych (fot. 2). Ocena pod mikroskopem (powiększenie 10x i 20x) pozwala ustalić, ile zarodników poszczególnych gatunków grzyba znajduje się w danym czasie i miejscu (fot. 3).



Fot. 1. Odcinek 24-godzinnej pracy pułapki Burkarda

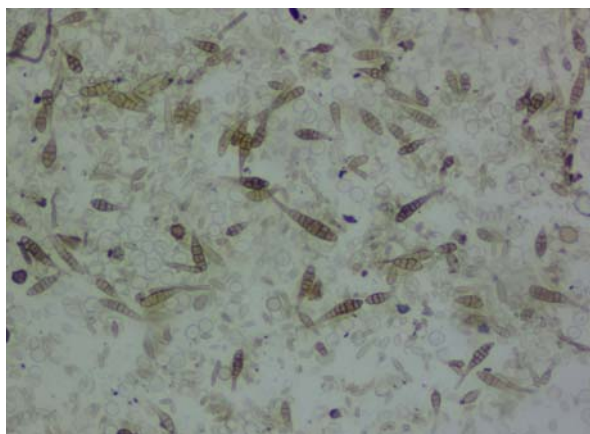


Fot. 2. Zróżnicowanie dobowego natężenia zarodników w powietrzu badanym w pułapce Burkarda

Monitorowanie stężenia zarodników prowadzono przez cztery miesiące, nieprzerwanie od 1 czerwca do 1 października, od fazy zwiarcia roślin w międzyrzędziach BBCH 30-39 do zbioru plonu BBCH 90-99 (fazy rozwojowe ziemniaka – wg Hack i in. 2001).

Materiał roślinny z objawami alternariozy zbierany z poletek doświadczalnych 10 kontrolnych odmian ziemniaka (bardzo wczesne

i wczesne – Justa, Miłek, Innowator, Oman; średnio wczesne – Cekin, Irga; średnio późne i późne – Danuta, Promyk, Kuras, Pokusa), poddano hodowlom agarowym. Wyrosłe izolaty oceniano w cotygodniowej identyfikacji mikroskopowej i testem PCR. Badania przeprowadzono we współpracy z firmą Bayer Crop Science.



Fot. 3. Zarodniki *Alternaria* w powietrzu
– ocena pod mikroskopem

Wyniki i dyskusja

Skład populacji grzybów *Alternaria* i ich liczebność zależały od roku obserwacji i panującej w nim warunków agrometeorologicznych. Najwcześniej, bo już 9 czerwca, alternarioza wystąpiła w latach 2014 i 2016 na bardzo wczesnej odmianie Miłek. W tym czasie odnotowano znaczny wzrost tempera-

tury powietrza przy jednoczesnym zmniejszeniu ilości opadów (tab. 1). W latach 2013 i 2015 chorobę zarejestrowano znacznie później – w trzecim (18.06.) i czwartym (29.06.) tygodniu czerwca, przy bardziej obfitych deszczach. W poszczególnych tygodniach liczba zarodników grzybów rodzaju *Alternaria* zmieniała się. Obserwowano także wahania sezonowe w występowaniu obu gatunków. Generalnie w zebranych próbach dominował *A. alternata* (*A.a.* : *A.s.* = 89 : 11, tab. 2). Ten czynnik chorobotwórczy był obecny od początku okresu wegetacji ziemniaka aż do zbioru. Natomiast zarodniki *A. solani* wystąpiły znacznie później – między III dekadą lipca a II dekadą września. Coroczne ekspertyzy przeprowadzane w krajach Europy Zachodniej przez grupę specjalistów od ochrony ziemniaka potwierdzają wyniki badań własnych co do terminu pojawiania się i rozwoju sprawców alternariozy (Hansen i in. 2015, Schepers i in. 2017).

Tabela 1

Przebieg warunków pogodowych w Boninie w terminach badań

Termin obserwacji	Opady				Temperatura				Wilgotność			
	2013	2014	2015	2016	2013	2014	2015	2016	2013	2014	2015	2016
1-7.06.	6,8	2,6	0,4	1,6	13,2	14,6	15,0	18,5	88,4	85,0	70,7	75,7
8-14.06.	3,6	21,0	43,0	21,4	15,7	17,7	14,2	13,0	79,5	80,4	79,0	82,6
15-22.06.	0,6	33,8	112,7	32,4	22,2	13,9	13,7	16,5	74,9	82,6	89,9	88,6
23-30.06.	42,2	11,8	24,8	27,0	15,1	14,2	14,4	19,8	86,4	83,1	91,3	83,0
1-7.07.	12,8	28,0	10,4	83,2	17,3	18,7	24,7	16,5	86,3	79,2	73,9	84,4
8-14.07.	12,8	3,0	16,6	58,0	16,5	19,9	15,4	17,6	86,5	80,8	84,9	88,7
15-22.07.	0,2	0	18,4	20,6	20,5	20,6	16,5	19,8	81,0	75,3	83,6	84,1
23-31.07.	36,2	3,2	55,6	33,4	20,2	22,7	15,5	21,5	81,0	73,7	87,4	99,0
1-7.08.	7,0	21,8	0	47,0	21,8	20,9	20,5	16,5	78,1	77,8	75,0	91,4
8-14.08.	23,2	19,9	12,8	6,2	17,1	18,9	21,1	15,2	84,7	79,6	80,6	85,3
15-22.08.	13,4	21,4	0,2	71,0	20,1	14,6	21,0	15,7	81,5	80,9	59,4	91,0
23-31.08.	1,2	20,3	14,4	14,4	16,4	14,0	18,9	18,6	80,1	85,1	75,2	84,0
1-7.09.	22,8	1,0	49,8	28,0	15,2	16,1	14,9	15,7	81,3	78,7	86,3	89,8
8-14.09.	28,4	33,0	9,2	0,8	14,5	16,0	14,2	19,1	84,8	91,5	86,4	86,6
15-22.09.	15,4	13,2	38,6	0,4	13,3	15,8	15,0	13,7	94,7	80,0	86,9	83,1
23-30.09.	9,6	5,1	1,2	3,4	8,6	11,6	10,5	13,4	89,1	89,2	91,0	83,4

W roku 2013 maksymalne stężenie zarodników obu sprawców alternariozy notowano od 28 lipca do 10 września, a łączna liczba ich zarodników wynosiła 4245 (*A.a.* : *A.s.* = 96 : 4). W tym czasie występowały dni ze zmiennym natężeniem deszczu, a tempe-

ratura średnio wynosiła 18°C (tab. 1). Warunki pogodowe bardziej sprzyjały rozwojowi populacji *A. alternata*. Najbardziej natężony pojaw zarodników w sezonie 2014 wystąpił o dwa tygodnie wcześniej, już 8 lipca, i trwał do końca sierpnia (tab. 2). W tym czasie

zebrano 7850 zarodników *A. alternata* i 617 *A. solani*. W omawianym roku podobnie jak w sezonie 2013 warunki meteorologiczne były zmienne. W czerwcu i na początku lipca było wilgotno i chłodno. Dopiero druga połowa lipca była cieplejsza (średnia dobowa temperatura wynosiła 20°C), a przemienne opady deszczu sprzyjały zarodnikowaniu *A. solani*. O korzystnym wpływie wyższych temperatur na zwiększenie zarodnikowania sprawców alternariozy mówią Pscheidt i Stevenson (1988) oraz Osowski (2011). Według tych autorów rozwój infekcji i produkcja zarodników zachodzi w temperaturze między 5 a 30°C z optimum ok. 20°C.

Pogoda w sierpniu natomiast sprzyjała wzrostowi koncentracji zarodników obu ga-

tunków. Najliczniej odławiano zarodniki obu patogenów między II dekadą lipca (18.07.) a I dekadą września (7.09.).

Sprzyjające warunki pogodowe dla masowego uwalniania zarodników konidialnych w roku 2015 wystąpiły między 23 lipca a 15 września. Na szkiełkach pułapkowych w Boninie zebrano 10 042 konidia z rodzaju *Alternaria*: ponad 63% (8660 zarodników) z gatunku *A. alternata* i 37% (1380) świadczących o obecności *A. solani*. Podczas kumulacji zbioru odnotowano przedłużające się okresy słabszych opadów, spadek wilgotności względnej powietrza nawet do 60% oraz temperaturę powietrza w granicach 20°C (tab. 1).

Tabela 2

Stężenie zarodników *Alternaria* odławianych w sezonie wegetacyjnym (2013-2016)

Termin obserwacji	Liczba zarodników							
	rok 2013		rok 2014		rok 2015		rok 2016	
	<i>A. alt.</i>	<i>A. sol.</i>	<i>A. alt.</i>	<i>A. sol.</i>	<i>A. alt.</i>	<i>A. sol.</i>	<i>A. alt.</i>	<i>A. sol.</i>
1-7.06.	395	3	458	5	46	2	544	51
8-14.06.	136	0	270	4	63	2	337	9
15-22.06.	72	0	37	0	147	2	421	29
23-30.06.	68	0	77	0	221	4	671	64
Suma	493	3	842	9	477	10	1973	153
1-7.07.	214	2	567	9	496	19	581	123
8-14.07.	281	0	1025	43	655	34	517	44
15-22.07.	288	2	1407	105	1029	61	1075	304
23-31.07.	719	0	1266	95	1517	112	2827	1184
Suma	1502	4	4265	252	3697	226	5000	1655
1-7.08.	524	16	1719	129	1655	262	2834	725
8-14.08.	559	17	1546	143	1822	370	1880	197
15-22.08.	774	21	1178	89	1627	282	1034	47
23-31.08.	786	24	734	56	1445	184	168	9
Suma	2643	85	5177	417	6549	1098	5916	978
1-7.09.	357	46	492	76	592	172	1272	47
8-14.09.	357	45	363	24	374	73	340	9
15-22.09.	302	5	572	48	405	50	252	5
23-30.09.	0	0	83	1	102	6	71	0
Suma	1016	96	1510	149	1473	301	1935	61

Sezon 2016 charakteryzował się nadmierną wilgotnością względną powietrza, ok. 90%, zwłaszcza w lipcu i sierpniu. Wyższe dobowe opady deszczu i temperatura rzadko przekraczająca 20°C (tab. 1) znacząco wpłynęły na liczebność grzybów z rodzaju *Alternaria*. Wysyp zarodników przebiegał tygodniowymi etapami, związanymi z panującymi w tym czasie warunkami pogodowymi-

mi. Dni cieplejsze sprzyjały bardziej zarodnikowaniu gatunku *A. solani*, a obfitsze opady – gatunku *A. alternata*. Analiza fragmentów taśm z pułapki wykazała, że kumulacja zarodnikowania obu gatunków grzybów w roku 2016 wystąpiła między 25 lipca a 12 sierpnia. Ogólnie w tym czasie zebrano 9647 zarodników obu gatunków. W przypadku *A. alternata* szczyty masowego zarodnikowania

notowano w sezonie częściej (2-3 razy) i trwały one dłużej (nawet do 3 tygodni) aniżeli u *A. solani*.

Niezależnie od sezonu wegetacyjnego początkowa koncentracja zarodników *Alternaria* w powietrzu była niska. Miesięczne sumy zarodników, jak też ich maksymalne stężenie były najwyższe w sierpniu i niewiele niższe w lipcu. Wysokie stężenie zarodników *Alternaria* odnotowano także na początku września. Stężenie zarodników było wyższe w czasie dojrzewania i zbioru ziemniaków. Termin największego nasilenia występowania zarodników był podobny we wszystkich latach badań i trwał od III dekady lipca do I dekady września. Wstępne analizy zależności występowania gatunków grzyba *A. solani* od warunków klimatycznych wskazują, że masowy pojaw zarodników nasila się podczas przedłużających się okresów z wyższą dobową temperaturą powietrza oraz przemiennie występującymi opadami deszczu (rejestrowano dni z bardzo słabymi opadami naprzemiennie z obfitymi). Stężenie zarodników *A. alternata* zwiększało się natomiast po deszczach, a temperatura w tym czasie nie przekraczała 20°C.

Najwcześniejsze szczyty zarodnikowania obserwowano w Boninie dla grzyba *A. alternata* – w 2. tygodniu lipca, a dla gatunku *A. solani* w 1. tygodniu sierpnia. Dobowa okresowość rozprzestrzeniania się zarodników wskazywała optimum ich pojawu głównie późnym wieczorem i nocą do wczesnych godzin rannych. Natomiast w sezonach 2015/2016 obserwowano wzrost liczebności zarodników również w godzinach popołudniowych. Dane te dowodzą, że w środowisku łąnu ziemniaczanego skład populacji *Alternaria* jest bardzo zmienny zarówno w ciągu sezonu, jak i w różnych lokalizacjach.

Wyniki izolacji na podłożach agarowych potwierdzają sezonową cykliczność badanej populacji z rodzaju *Alternaria*. Najwięcej pozytywnych izolatów z hodowli płytkowych otrzymano ze zbiorów sierpniowych (51% oznaczonych kultur), w lipcu było ich mniej, 34%, a w czerwcu i we wrześniu tylko 15%. Badania na ten temat prowadzone są w różnych rejonach Europy (Niemiec, Holandii, Danii, Anglii, Estonii). Oceną patogeniczności w stadium początkowej infekcji i rozwoju choroby na terenie Niemiec zajmowali się

Leiminger i inni (2014). Próbowali oni rozwiązać problem sprawcy pierwotnych infekcji chorobowych, wykorzystując czułe testy PCR. Do badań wykorzystywali materiał pozyskany z cotygodniowych ekspertyz chorych liści naturalnie zainfekowanych patogenami z rodzaju *Alternaria*. I uzyskali wyniki zbliżone z wynikami badań wykonywanych w naszym kraju.

Izolacje grzybów z typowych nekroz charakterystycznych dla alternariozy, prowadzone zarówno w Boninie, jak i w niektórych innych krajach Europy (np. Holandii, Niemczech, Danii), nie zawsze wskazywały na dominację gatunku *A. alternata*. Stwierdzano również obecność innych patogenów: *Alternaria tenuissima*, *A. infectoria*, *Colletotrichum coccodes*, *Cladosporium*, *Ulocladium*, *Fusarium*, *Alternaria brassicicola*, *A. brassicae* oraz *A. dauci*).

Brak jednoznacznej odpowiedzi i zgodności co do patogeniczności grzybów *Alternaria* wymusza na jednostkach badawczych nieustanne poszukiwanie skutecznych rozwiązań. Ale aby ocena zagrożeń była kompleksowa, a monitorowanie sprawców i przeciwdziałanie patologicznym skutkom ich aktywności skuteczne, potrzebna jest współpraca wszystkich zainteresowanych stron, a więc hodowców, przemysłu agrotechnicznego, naukowców i plantatorów.

Prowadzone badania dostarczają danych do opracowania modelu rozwoju patogenów dla potrzeb tworzenia systemów wspomagających podejmowanie decyzji w ochronie i polepszania jej skuteczności w ograniczaniu rozwoju alternariozy.

Wnioski

1. Stosunek ilościowy, w jakim występują oba gatunki grzybów z rodzaju *Alternaria*, jest zmienny i zależy od wielu czynników, przede wszystkim od układu warunków pogodowych i siedliskowych.

2. W latach 2013-2016 gatunkiem dominującym w populacjach grzybów z rodzaju *Alternaria* okazał się *Alternaria alternata*.

3. Największe zagrożenie alternariozą w uprawach ziemniaka na północy kraju występuje na przełomie lipca i sierpnia, zwłaszcza kiedy obserwuje się maksymalny wysyp zarodników *Alternaria solani*.

Literatura

- Hack H., Gall H., Klemke Th., Klose R., Meier U., Stauss R., Witzemberger A. 2001.** The BBCH scale for phenological growth stages of potato (*Solanum tuberosum* L.) [In:] Growth Stages of Mono and Dicotyledonous Plants, BBCH Monograph. U. Meier (Ed.). Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry; **2. Hansen J. G., Andersson B., Sjöholm L., Liljeroth E., Edin E., Bain R., Lees A., Ritchie F., Kildea S., Cooke L., Young G., Fillippov A., Hannukkala A., Hausladen H., Hausvater E., Hermansen A., Naerstad R., Kapsa J., Runno-Paurson E., Koppel M., Musa T., Gulbis G., Ronis A., Vogelaar K., Spoelder J., Evanhuis B., Vanhaverbeke P., Chatot C. 2015.** Epidemics and control of early and late blight 2013 and 2014 in Europe. [In:] Special Report no. 17 (H. T. A. M. Schepers, ed.). Appl. Plant Res., Wageningen UR, PPO 664: 11-31; **3. Hausladen H., Leiminger J. 2007.** Potato early blight in Germany (*Alternaria solani*, *Alternaria alternata*). [In:] Special Report no.12. (H. T. A. M. Schepers, ed.). Appl. Plant Res. Wageningen UR, PPO 370: 189-194; **4. Hirst J. M. 1952.** An automatic volumetric spore trap. – Ann. Appl. Biol. 39: 257-265; **5. Kapsa J., Osowski J. 2004.** Occurrence of early blight (*Alternaria* spp.) at potato crops and results of its chemical control in Polish experiences. [In:] Special Report no. 10. (C. E. Westerdijk, H. T. A. M. Schepers, eds). Appl. Plant Res. Wageningen, PPO 333: 101-107; **6. Kokaeva L. Yu., Kudryavtzeva N., Pobedinskaya M. A., Statsyuk N. V., Zaitchik B. T., Elansky S. N. 2015.** Virulence of *Alternaria* strains toward potato and tomato cultivars. [In:] Special Report no. 17 (H. T. A. M. Schepers, ed.). Appl. Plant Res., Wageningen UR, PPO 664: 121-126; **7. Leiminger J., Bahnweg G., Hausladen H. 2014.** Differentiation of *Alternaria* species and quantification of disease development using real-time PCR. [In:] Special Report no. 16 (H.T. A. M. Schepers, ed.). Appl. Plant Res., Wageningen UR, PPO 568: 189-194; **8. Osowski J. 2011.** Występowanie zarodników grzybów z rodzaju *Alternaria* w sezonach wegetacyjnych 2008-2009. – Post. Ochr. Rośl. 51(2): 678-683; **9. Pscheidt J. W., Stevenson W. R. 1988.** The critical period for control of early blight (*Alternaria solani*) of potato. – Am. Potato J. 65: 425-438; **10. Schepers H., Lees A., Hansen J. G., Hausladen H. 2017.** Epidemics and control of early & late blight, 2015 & 2016 in Europe. EuroBlight workshop 14-17 May, 2017, Aarhus, Denmark http://euroblight.net/fileadmin/euroblight/Presentations/1_Huub_Schepers.pdf; **11. Spoelder J., Ellens R., Turkensteen L. 2014.** Comparing pathogenicity of *Alternaria solani* and *Alternaria alternata* in potato. [In:] Special Report no. 16 (H.T. A. M. Schepers, ed.). Appl. Plant Res., Wageningen UR, PPO 568: 97-102; **12. Stammer G., Böhne F., Pholippi J., Messner S., Tegge V. 2014.** Pathogenicity of *Alternaria*-species on potatoes and tomatoes.2014. [In:] Special Report no. 16 (H. T. A. M. Schepers, ed.). Appl. Plant Res., Wageningen UR, PPO 568: 85-96; **13. Tsedaley B. 2014.** Review on Early Blight (*Alternaria* spp.) of Potato Disease and its Management Options. – J. Biol. Agric. Healthcare 4, 27: 191-198