

***Alternaria* spp. I *A. mali* PROUZROKOVAČI LISNE PEGAVOSTI JABUKE**

Aleksandra Bulajić i Mira Vojvodić

Poljoprivredni fakultet-Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

E-mail: bulajic_aleksandra@yahoo.com

Izvod

Alternarijska lisna pegavost jabuke je bolest koja se javlja širom sveta, a izaziva je kompleks vrsta koje se imaju različit taksonomski status. Najčešće pripadaju vrsti *A. alternata* ili kompleksu vrsta *A. arborescens*. Zbog složene taksonomije, razmatranje podataka o prisustvu i rasprostranjenosti, značaju, ali naročito karantinskom statusu nije jednostavno. Kao najprecizniji način da se označi prouzrokovalac lisne pegavosti jabuke preporučuje se *A. alternata* patotip jabuke ili *Alternaria* spp. sa sitnim sporama, a karantinska regulacija ograničena je na izolate koji imaju sposobnost da biosintetišu toksin specifičan za domaćina, AM-toksin. U našoj zemlji pojedinih godina može se uočiti pojava lisne pegavost i pegavosti ploda jabuke izazvana vrstama roda *Alternaria*. Iz zaraženih biljaka prilikom višegodišnjeg uzorkovanja, dobijeni su izolati koji morfološki pripadaju *Alternaria* vrstama sa sitnim sporama. Međutim, na osnovu molekularnih analiza nije ustanovljeno prisustvo karantinskih patotipova sa sposobnošću biosinteze AM-toksina, koji su nekada označavani sa *A. mali*, tako da prema tome *A. alternata* patotip jabuke nije prisutan u Srbiji.

Ključne reči: *Alternaria alternata* taksonomska pozicija, prisustvo, AM-toksin, istraživanja u Srbiji

UVOD

Rod jabuka (*Malus* Miller, fam Rosaceae) obuhvata divlje šumsko drveće i 33 vrste jabuka a u toku evolucije spontano se ukrštalo 11 vrsta da bi nastala plemenita jabuka (*Malus domestica* Borkh.) sa danas poznatih preko 10.000 sorti. Po proizvodnji, prometu i potrošnji jabuka se nalazi na trećem mestu u svetu, posle cirusa i banane i predstavlja najznačajniju listopadnu voćku. U svetu se u 2020. godini gajila na preko 4,6 miliona hektara sa proizvedenih skoro 86,5 miliona t, dok je u Evropi zasađena na skoro milion ha sa proizvedenih skoro 18 miliona tona

plodova. U Srbiji se u 2020. godini gajila na 26.360 ha i proizvedeno je skoro pola miliona tone plodova (Faostat, 2020, <https://www.fao.org/faostat/en/#home>). Kao vrlo intenzivan usev, jabuka može biti ugrožena sa preko 70 bolesti od kojih je velika većina izazvana fitopatogenim gljivama i pseudogljivama (Nabi i sar., 2020). Nekoliko bolesti, kao što su čađava pegavost lista i krastavost ploda, alternarijska pegavost, kao i pucanje kore i rak rane stabla, rasprostranjene su i često veoma značajne širom sveta (Muneer i sar., 2017). Alternarijska pegavost lista i ploda koju izazivaju *Alternaria* spp. predstavlja izraženu pretnju proizvodnji u više regiona gajenja jabuke. Poslednjih dekada, bolesti jabuke izazvane sa vrstama roda *Alternaria* nanose značajne gubitke proizvodnji jabuke u većini proizvodnih područja u svetu (Filajdić i sar., 1991). Prvi podaci o alternarijskoj lisnoj pegavosti jabuke potiču sa područja SAD još iz perioda od pre skoro 100 godina, a danas postoje izveštaji o prisustvu u većini zemalja koje imaju značajnu proizvodnju jabuke (Madhu i sar., 2020). Bolest može da ugrozi većinu sorti, ali se kao najosetljivije obično navode sorte iz grupe Delicious (Bhat i sar., 2015).

TAKSONOMSKA POZICIJA

Alternarijsku lisnu pegavost jabuke izazivaju vrste iz roda *Alternaria*, koji se svrstava u podcarstvo Dicitaria, razdeo Ascomycota, podrazdeo Pezizomycotina, klasu Dothideomycetes, red Pleosporales i familiju Pleosporace. Ovaj rod se razlikuje od ostalih gljiva po specifičnom izgledu (morfologiji) konidija koje su krupne, tamne, višćelijske sa poprečnim i uzdužnim septama, u nizovima ili pojedinačne, ovoidne ili kruškolike i često sa razvijenim kljunom (Madhu i sar., 2020). U većini literaturnih izvora koji opisuju pojavu alternarijske lisne pegavosti od prvih nalaza pa do prve primene molekularnih metoda identifikacije, kao prouzrokovatelj bolesti navodi se *Alternaria mali* Roberts. Noviji podaci pokazali da je koncept ove vrste nedovoljno dobro definisan i da su *A. alternata*, *A. arborescens*, *A. longipes*, *A. tenuissima* i srodne vrste takođe detektovane kao prouzrokovatelji lisne pegavosti jabuke u različim delovima sveta (Harteveld i sar., 2013).

U literaturi trenutno preovlađuje stanovište da je prouzrokovatelj lisne pegavosti jabuke najpravilnije označavati sa *Alternaria alternata* patotip jabuke (apple pathotype AAap, prethodno označena sa *A. mali*) (Andersen i sar., 2006; Rotondo i sar., 2012; Harteveld i sar., 2014a, 2014b).

Vrste roda *Alternaria* ispoljavaju veliku raznolikost u pogledu načina života i ponašaju se kao saprotrofi, oportunistički patogeni i/ili kao patogeni biljaka prilagođeni svom domaćinu (Thomma, 2003). Taksonomija vrsta ovog roda, većinom bespolnog razmnožavanja, je predmet obimnih istraživanja i na osnovu filogenetskih molekularnih proučavanja rod se deli na 26 sekcija. Sekcija *Alternaria* (nekada se vezivala za vrstu *Alternaria alternata*) obuhvata vrste sa sitnim sporama

(small-spored) koje se najčešće formiraju u razgranatim nizovima (katenuhirane). Vrste u okviru ove sekcije su se u prošlosti uglavnom opisivale na osnovu morfoloških osobina i/ili specifičnosti za domaćina, dok je molekularna varijabilnost između opisanih vrsta minimalna (Woudenberg i sar., 2015). Veliki problem u razdvajanju vrsta predstavlja činjenica da se morfološke osobine preklapaju, da veliki broj vrsta pripada istom ITS haplotipu (Kusaba i Tsuge, 1995), kao i da postoji niska varijabilnost u drugim često korišćenim barkoding markerima (Lawrence i sar., 2013; Armitage i sar., 2015; Woudenberg i sar., 2013, 2015; Armitage i sar., 2020). Možda najtačniju definiciju današnjeg razumevanja taksonomske pozicije prouzrokovala alternarijske lisne pegavosti navodi Fontaine i sar. (2021) koji kažu da alternarijsku lisnu pegavost izaziva jedna filogenetska vrsta i jedan kompleks vrsta, odnosno *A. alternata* i *A. arborescens* species complex (*A. arborescens* SC).

Vezano uz vrstu *A. alternata* dugo se koriste termini *forma specialis* i patotip da bi se opisali izolati koji se ne mogu morfološki razlikovati, ali su sposobni da zaraže određenog domaćina. Nomenklatura koja se koristi je različita, puna sinonima, nedoumica i nedovoljno rešenih pojmova i vrsta sa nejasnom pozicijom. Nishimura i Kohmoto (1983) su predložili da se izolati *Alternaria* spp. sa zajedničkom morfologijom, a koji proizvode različite toksine specifične za biljku domaćina (host specific toxins, HST), definišu kao različiti patotipovi (Kang i sar., 2003). Trenutno je u literaturi opisano sedam patotipova (Akimitsu i sar., 2014). Sa druge strane, opisi najmanje 16 različitih *f.sp.* se sreću u literaturi i većina njih je uzdignuta na nivo vrste od strane Simmons (2007).

Među različitim *forma specialis*, često se uz patogena jabuke, odnosno staru opisanu vrstu *Alternaria mali* pominje sinonim *Alternaria alternata* f. sp. *mali* za koju je karakteristično da proizvodi AM-toksin (Woudenberg i sar., 2013, 2015). Status ove vrste se dovodi u pitanje ne samo zbog taksonomske pozicije i nomenklature, već i zbog karantinskog statusa prouzrokovala alternarijske lisne pegavosti jabuke koja se nalazi na Evropskim karantinskim listama (Rotondo i sar., 2012, Hartevelt i sar., 2013). Neki od rezultata ukazuju da više različitih vrsta roda *Alternaria* može da se poveže sa simptomima lisne pegavosti i pegavosti ploda jabuke u Italiji i Australiji, gde nije bilo moguće razdvojiti izolate *A. mali* od izolata *A. tenuissima* primenom niza molekularnih analiza. Jedina mogućnost jeste specifična detekcija AM-toksina (Woudenberg i sar., 2015).

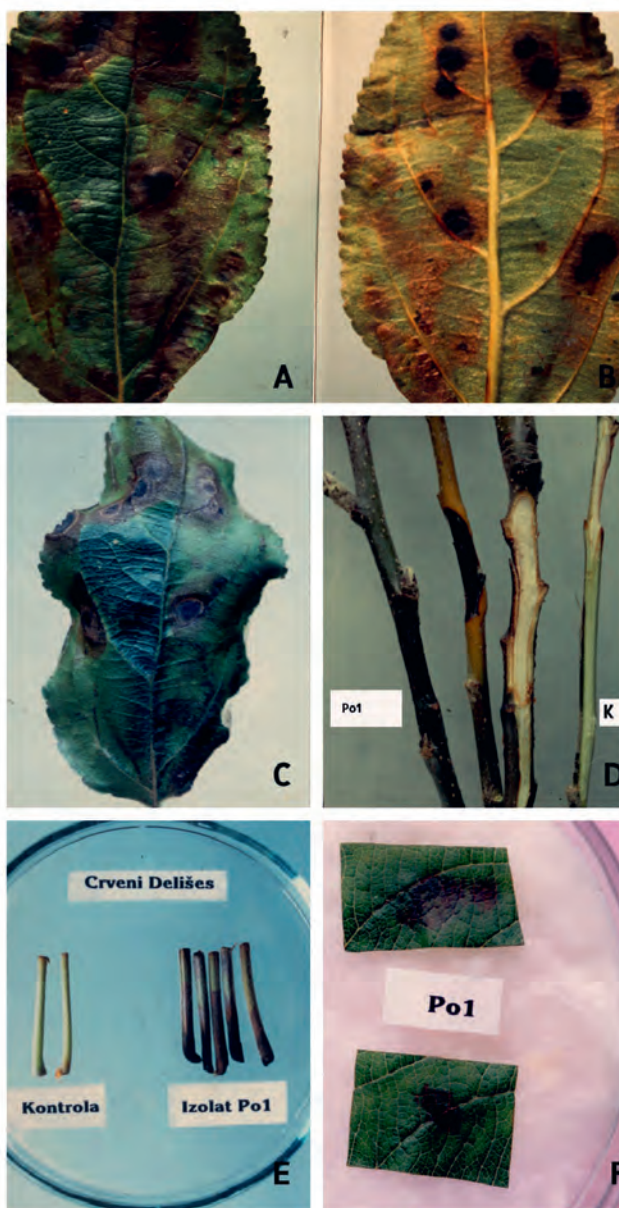
RASPROSTRANJENOST

Nedovoljno rasvetljen taksonomski status vrste *A. mali*, kao i nedoumice oko nomenklature prouzrokovala alternarijske lisne pegavosti jabuke, kao posledicu imaju i nedoumice oko rasprostranjenosti. Globalna baza podataka EPPO (EPPO Global Database, <https://gd.eppo.int/>) omogućava uvid u prisustvo i rasprostranje-

nost različitih formi *A. alternata* proizvođača AM-toksina (kao što je *A. mali*) na *Malus* spp. a o čijem prisustvu postoje publikovani podaci širom sveta. Zbog različitih izveštaja o identitetu prouzrokovaca lisne pegavosti jabuke u Evropi je usaglašen stav da se dijagnostika zasniva na detekciji gena odgovornih za biosintezu AM-toksina, što se već duže vreme primenjuje. Međutim, taj stav nije jedinstven u svetu i zbog toga postoje mnoge nedoumice oko rasprostranjenosti izvan područja Evrope. Tako ima izveštaja da je *A. mali* u Americi prisutna u Kanadi, SAD (Filajdić i Sutton, 1991) i Čileu, u Aziji u Kini, Indiji (Sofi i sar., 2013b), Iranu (Solemani i Esmailzadeh, 2007), Izraelu, Japanu (Rotem, 1994), Koreji, Pakistanu, Tajvanu, u Okeaniji i u Australiji (Andersen i sar., 2006), dok u Evropi postoje podaci je *A. mali* prisutna u Srbiji (Bulajić i sar., 1996), Turskoj (Ozgonen i Karaca, 2005) i Italiji (Rotondo i sar., 2012). Situaciji i istraživanja u Srbiji će kasnije u tekstu detaljnije biti prodiskutovana.

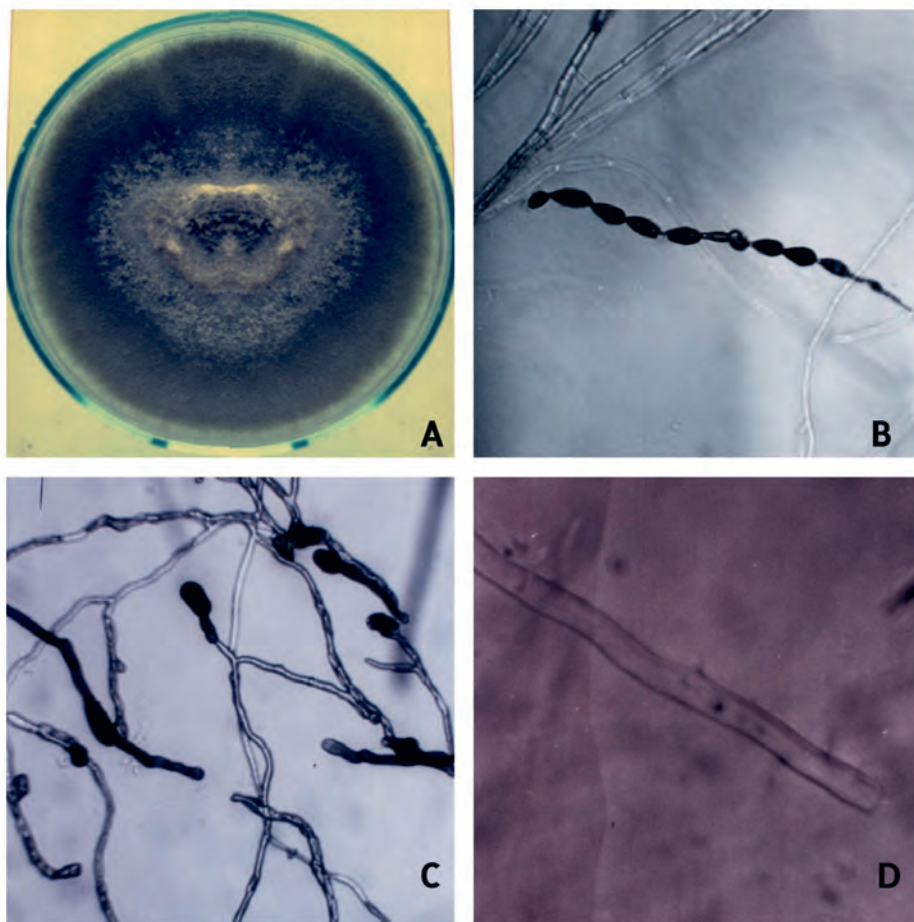
Prisustvo izolata *Alternaria* sa sitnim sporama koji poseduju gene za biosintezu AM-toksina dokazano je u Danskoj i Italiji. U Danskoj, dva izolata koja potiču iz cvetova jabuke testirana su pozitivno na gen za AM-toksin (Andersen i sar., 2006), što je potvrđeno i morfološkim i drugim proučavanjima. Na severu Italije je još od 1990-tih godina uočena pojava simptoma koji odgovaraju opisima alternarijske lisne pegavosti. Iz simptomatičnih biljaka iz područja Alto Adiđo, iz lisnih pega dobijeni su izolati koji su upoređivani sa referentnim izolatima i identifikovani kao *A. alternata*. Obavljeni su uporedni testovi patogenosti sa intaktnim izolatima i sa filtratima tečnih kultura i dobijeni su tipični simptomi alternarijske lisne pegavost (Marschall i Bertagnoll, 2006). Bolest je uočena i u okolini Trentina i takođe je na osnovu izolacije i provere patogenosti prouzrokovac identifikovan kao *A. alternata* (Gobber i sar., 2004). Bolest je naknadno uočena i u Lombardiji, Friuli, Veneteo i Piedmontu sa sličnim rezultatom, mada testovi patogenosti nisu obavljani. Rotondo i sar. (2012) su sprovedi detaljna istraživanja na kolekciji od 173 izolata sakupljenih širom severa Italije i njihovim poređenjem sa četiri referentna izolata, od toga tri identifikovana kao *Alternaria* patogen jabuke sa sitnim sporama iz Japana, dok je četvrti tipski izolat *A. mali*. Od sakupljenih 173 izolata, 44 su bili patogeni i identifikovani su da pripadaju zbirnim vrstama *A. tenuissima*, *A. arborescens* i *A. alternata*, tri od četiri referentna izolata ispoljila su model sporulacije koji odgovara *A. tenuissima*, dok je četvrti ispoljio model sporulacije *A. arborescens*. Od svih patogenih izolata, 10 je bilo pozitivno da prisustvo gena za AM-toksin, kao i tri japanska izolata. Iz navedenog zaključeno je da alternarijsku lisnu patogenost izaziva više vrsta roda *Alternaria*, kao i da AM-toksin nije isključivi element koji određuje patogenost.

Nalaz u EPPO Globalnoj bazi podataka vezan za Srbiju zapravo potiče od ranijih istraživanja u bivšoj Jugoslaviji (Bulajić i sar., 1996) kada je na više lokaliteta gajenja jabuke ustanovljena intenzivnija pojava lisne pegavosti na sorti Golden Delicious i srodnicima sa karakterističnim simptomima (Slika 1).



Slika 1. *Alternaria alternata* patotip jabuke: nekrotične pege na licu (A) i naličju (B) lista; pege na veštački inokulisanom listu (C); nekroza veštački inokulisanih grančica (D); nekroza peteljki uronjenih u koloniju (E) i nekroza lista nakon delovanja filtrata tečne kulture (F) (Bulajić, 1996).

Identifikacija prouzrokovaca obavljena je na osnovu morfoloških osobina dobijenih izolata (Slika 2) kojima je potvrđena patogenost (slika 1C, 1D i 1E), kao i patogenost filtrata tečnih kultura (slika 1F) (Bulajić, 1996).



Slika 2. *Alternaria alternata* patotip jabuke: siva bujna kolonija na PDA (A); konidije u nizu (B); prokljijale konidije (C); jednojedarne hife (D) (Bulajić, 1996).

Od tada duži niz godina na teritoriji Srbije nije bilo podataka o značajnijoj pojavi bolesti niti o prouzrokovacu. Nakon uvođenja molekularnih metoda u proces identifikacije fitopatogenih gljiva u Srbiji, obavljena su detaljnija istraživanja praćenja prisustva *Alternaria mali* kao karantinski regulisane fitopatogene gljive u sklopu mera Posebnog nadzora koje finansira Uprava za zaštitu bilja, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede. Istraživanja su trajala pet godina, od 2013-2017. godine. Svake godine je pregledano 4-14 lokaliteta (ukupno tokom godina

47 lokaliteta, odnosno zasada) i sakupljeni su simptomatični uzorci listova sa 3-11 sorti po godini (ukupno je uzorkovano 14 različitih sorti ili klonova). Sakupljeno je ukupno 1938 uzoraka koji su pojedinačno ili zbirno analizirani primenom morfoloških i molekularnih metoda. Čiste kulture sa odgovarajućim izgledom kolonije i morfologijom spora testirane su primenom lančane reakcije polimeraze (Polimerase chain reaction, PCR) i para prajmera LinF1/LinR, koji specifično detektuju gen odgovoran za biosintezu AM-toksina (Johnson i sar., 2000). Primenom navedenih metoda ni u jednom od sakupljenih uzoraka nije ustanovljeno prisustvo *A. alternata* patogena jabuke sa genom za AM-toksin. Slična situacija je registrovana u Francuskoj, gde se od 2016. godine redovno javlja veći intenzitet alternarijske lisne pegavosti ali gde nije detektovano prisustvo izolata sa sposobnošću da biosintetišu AM-toksin (Fontaine i sar., 2021).

ZNAČAJ

Alternarijska pegavost lista i ploda jabuke je ekonomski značajna bolest u nekoliko regiona u svetu, pre svega u jugoistočnoj Aziji, na jugoistoku SAD i na severu Italije (EFSA PLH Panel, 2017), gde je uočena prevremena defolijacija i pegavost plodova (Filajdić i Sutton, 1991; 1992b; Rotondo i sar., 2012; Hartevel i sar., 2014a, 2014b; Sawamura, 2014). Bolest je naročito značajna na visokoprotabilnim sortama kao što su Golden Delicious, Red Delicious, Gala, Fuji, Pink Lady i druge (Filajdić i Sutton, 1991, Rotondo i sar., 2012). Zabeležena je jaka defolijacija od čak 60-85% u slučajevima zaraze lista (Filajdić i Sutton, 1992b), dok se zaraza ploda uglavnom manifestuje kroz pojavu sitnih, krastavih, tamnih pega ograničenog porasta, često u blizini lenticela. Zabeležena je pojava i vlažne truleži ploda naročito u slučajevima kada je plod već oštećen mehanički, usled prisustva grinja, vaši ili na druge načine (Filajdić i sar., 1995a, 1995b). Ukoliko i ne dodje do prevremnog opadanja napadnutih plodova, što je najčešće, njihov kvalitet opada tako da se uglavnom mogu koristiti samo za preradu, što pričinjava velike materijalne gubitke proizvođačima.

Publikovani su detalji o značajnim štetama u toku 1987-1988. godine na različitim sortama grupe Delicious u Severnoj Karolini, SAD (Filajdić i Sutton, 1991), kada je zabeležena defolijacija od čak 60%. Sa druge strane, u Australiji u područjima gajenja jabuke zabeleženo smanjenje prinosa od 15-25% (Horlock, 2006) praćeno sa defolijacijom od 60-85% (Hartevel i sar., 2013). Velike štete naročito na podu jabuke zabeležene su na severu Izraela, naročino na sorti Pink Lady što je bilo praćeno intenzivnom defolijacijom. U nekim zasadima čak 80% plodova ispoljavalo je simptome (Gur i sar., 2017).

KARANTINSKA POZICIJA I STATUS

Neusaglašenost o karantinskom statusu *A. mali* i srodnih vrsta koje se navode kao prouzročivači alternarijske lisne pegavosti jabuke u bliskoj vezi je sa specifičnostima njihovog karantinskog statusa i regulative. Tako su *Alternaria* spp. sa sitnim sporama sa genom za biosintezu AM-toksina (kao što je *A. alternata* patotip jabuke) regulisane su kroz Aneks IIAI direktive Saveta EU 2000/29/EC o sprečavanju unošenja i širenja štetnih organizama na teritoriji Evropske Unije i označene kao *A. alternata* neevropski (non-European) patogeni izolati. Naglašeno je da je u karantinskom nadzoru neophodno primenjivati brze i tačne dijagnostičke metode koje mogu da razlikuju filogenetski srodne taksone. Na karantinskim listama Evropske organizacije za zaštitu bilja (European Plant Protection Organization, EPPO), kao ciljani organizam navodi se *A. mali* koja se nalazi na A1 karantinskoj listi od 1996. godine.

Status *A. mali* i srodnih vrsta koje se navode kao prouzročivači alternarijske lisne pegavosti jabuke je različit kada se uzmu u obzir karantinske liste različitih zemalja u svetu, čak u nekim zemljama nisu regulisane. U Africi, u Egiptu su od 2018. godine na A1 listi, a u Maroku i Tunisu se označavaju kao karantinski patogeni od 2012. godine. U Americi, kao kontinentu, u Argentini su od 2019. godine svrstani na A1 listu, a u Meksiku su od 2015. godine svrstani među karantinski štetne organizme. U Aziji, regulisane su samo u Bahreinu i od 2003. godine nalaze se na A1 listi. U Evropi su u Gruziji od 2018. godine na A1 listi, u Turskoj na A2 listi od 2016. godine, dok su u Norveškoj i Velikoj Britaniji označene kao karantinski organizmi od 2012. odnosno 2020. godine.

U Srbiji su na osnovu člana 34. stav 2. i član 35. stav 2. Zakona o zdravlju bilja (Službeni glasnik Republike Srbije broj 41/09 i Pravilnika o listama štetnih organizama i listama bilja, biljnih proizvoda i propisanih objekata (Službeni glasnik Republike Srbije 7/2010, 22/2012, 57/2015) svrstane na Listu IA deo I i označene kao *Alternaria mali*.

SIMPTOMI

U mnogim delovima sveta, na listu i plodu jabuke javljaju se simptomi koji se pripisuju *A. alternata* patotipu jabuke, mada ponekad takvi navodi nisu podržani odgovarajućim etiološkim istraživanjima. Ipak, iz područja gde je dokazano prisustvo *A. mali* i srodnih prouzročivača alternarijske lisne pegavosti usaglašeno je da se prvi simptomi javljaju kasno u proleće ili u rano leto u vidu sitnih, okruglih ljubičasto do crnih pega na listovima. Pege se kasnije uvećavaju i ivice pega poprimaju ljubičastu boju. Većina pega se sekundarno uvećava, postaje nepravilnog oblika i tamnija (Slika 1a, b). Ukoliko se pege javljaju na lisnim peteljicama, listovi žute i otpadaju. Veći intenzitet bolesti zbog toga dovodi do izražene prevremene defoli-

jacije (Filajdić i Sutton, 1995). Na intenzitet zaraze i time i na stepen defolijacije utiče jačina napada grinja, pre svega crvenog pauka, kao i brojnost biljnih vaši u zasadu (Filajdić i sar., 1995a, 1995b).

Simptomi na plodu se najčešće vide kao sitne kraste ili tamne pege ograničenog porasta. U uslovima povišene relativne vlažnosti, kao i tokom skladištenja, na pegama se može javiti sivkasta kolonija patogena (Persley i Horlock, 2009).

KRUG DOMAĆINA U EVROPI

Postoji saglasnost među istraživačima da se kao glavni domaćin vrsta roda *Alternaria* sa sitnim sporama koje biosintetišu AM-toksin (označene kao *A. mali*, *A. alternata* f. sp. *mali* ili *A. alternata* patotip jabuke) označava rod *Malus* (EPPO Globalna baza podataka, <https://gd.eppo.int>). Prema Farr i sar. (1989), na dunji (*Cydonia oblonga*) u SAD zabeležena je zaraza sa *A. mali*. Međutim, prema starijim nalazima na koje se poziva ova grupa autora *A. mali* se navodi kao sinonim za vrste *A. ciri* i *A. chartarum* koje imaju veoma širok krug domaćina uključujući i neke zeljaste i drvenaste biljke. Kako u nalazima iz tog perioda nema podataka da li se radi o vrstama koje biosintetišu AM-toksin, a ne postoje drugi literaturni izvori koji potvrđuju zarazu dunje, odlučeno je da se u dalju karantinsku regulativu ne uključuje dunja kao biljka domaćin.

MOGUĆI PUTEVI INTRODUKCIJE

Trenutno u Evropi postoji dosta usaglašeno stanovište da postoje dva osnovna načina kako dolazi do introdukcije *Alternaria* spp. koje biosintetišu AM-toksin i koje imaju potencijal da izazovu alternatijsku lisnu pegavost jabuke i to putem sadnog materijala na kome se nalaze spavajući pupoljci i putem svežih plodova jabuke koji potiču iz trećih zemalja, odnosno imaju neevropsko poreklo (EFSA PLH Panel, 2017).

Ne postoje dokazi o prenošenju spora prozrokovača semenom. Mada nema eksperimentalnih podataka koji to potvrđuju, smatra se da se spore mogu naći i kao kontaminacija na različitim mestima kao što su biljke koje nisu domaćini, biljni proizvodi ili druga roba koja je predmet međunarodne razmene, ali da ovo svakako nije značajan način moguće introdukcije.

Prema trenutnoj zakonskoj regulativi, uvoz sadnog materijala izuzev semena, iz neevropskih zemalja je zabranjen, zbog čega sadni materijal i sveži plodovi ostaju kao najznačajniji mogući put introdukcije na teritoriju Evrope.

KLIMATSKI USLOVI KAO USLOV ZA OPSTANAK I ŠIRENJE

Alternaria vrste sa sitnim sporama već se nalaze i rasprostranjene su na teritoriji Evropske Unije, a vrste koje sintetišu AM-toksin dokazane su na severu i jugu, odnosno u Danskoj i Italiji (Andersen i sar., 2006; Rotondo i sar., 2012). Biologija i pre svega epidemiologija *Alternaria* vrsta sa sitnim sporama kao zbirne grupe ne ispoljava bitne razlike i veoma je slična onoj grupi vrsta ovog roda koje su dobro adaptirane na teritoriju Evrope. Zbog toga, klimatski faktori svakako nisu odnosno neće biti limitirajući faktor za širenje patogena i izazivanje značajnijih šteta u ovom području gajenja jabuke ali i u našoj zemlji.

ŽIVOTNI CIKLUS

Grupa vrsta *Alternaria* sa sitnim sporama koje biosintetišu AM-toksin prema podacima iz literature uglavnom prezimljavaju micelijom u zaraženim listovima na površini zemlje. Smatra se da mogu da prezime i micelijom u zaraženim pupoljcima. Tokom proleća, sa porastom temperatura i u prisustvu vlaženja odnosno kiše, počinje sporulacija na površini prezimelih listova. Formirane spore šire se u visinu i budu donele u krošnju stabala, pre svega vetrom ili kišnim kapima nošenim vetrom. Do prvih zaraza obično dolazi oko mesec dana nakon precvetavanja (Harteveld i sar., 2013). Bolest nakon toga vrlo brzo može da napreduje u uslovima optimalnih temperatura od 25-31°C i vlaženja od minimum pet sati. Oko 20 dana nakon cvetanja konidije padaju na mladu tek izraslu biljnu masu i obavljaju zaraze. Do pojave simptoma u povoljnim uslovima može doći već dva dana nakon momenta zaraze (Filajdić i sar., 1992a). U SAD učestalost i intenzitet bolesti zavise od sekundarnih zaraza koje su sve brojnije kako vegetacija odmiče, obično vrhunac dostižu 90 dana od cvetanja, kada se javlja kombinacija visokih temperatura i vlage u obliku padavina ili visoke relativne vlažnosti vazduha. Tada obično počinju i zaraze ploda. Vremenom bolest napreduje na listovima, a učestalost zaraza ploda takođe raste do kraja leta ili početka jeseni kada može da dođe do defolijacije. Sposobnost prouzrokovala da biosintetiše AM-toksin doprinosi jačini bolesti na osetljivim sortama (Peter, 2017).

Do širenja *Alternaria* vrsta sa sitnim sporama koje biosintetišu AM-toksin u nekom području dolazi na dva osnovna načina, prirodnim putem i uz pomoć čoveka. Prirodnim putem, širenje u prirodi obavlja se pomoću konidja. One se formiraju na biljnom tkivu sa simptomima, a na veće razdaljine raznosi ih vetar. Rasejavanje na kraća rastojanja, odnosno u okviru krošnje jednog stabla ili na susedna stabla u zasadu obavlja se pomoću kišnih kapi ili kapi kiše u kojima se nalaze konidije a raznosi ih vetar. Sporulaciji doprinosi kiša ili nagle promene u relativnoj vlažnosti vazduha (Rotem, 1994). U literaturi nema tačnih informacija o udaljenostima na koje konidije mogu biti prenete vetrom. Sa druge strane, analize načina i udaljeno-

sti širenja *A. mali* i verovatno srodnih vrsta sa sitnim sporama u zasadima jabuke u SAD ukazuju da artropode, pre svega grinje, mogu da budu odgovorne za unošenje inokuluma u zasad jabuke (Filajdić i Sutton, 1994; Filajdić i sar., 1995a, 1995b).

Kada se govori o širenju patogena uz pomoć čoveka, pre svega se misli na širenje na veće udaljenosti putem zaraženog sadnog materijala i svežeg voća, odnosno na izmeštanje sa područja gde je patogen prisutan u nova i udaljena područja gde ranije nije ustanovljeno prisustvo bolesti. Mere koje mogu da doprinesu sprečavanju unošenja patogena u nova područja jesu kontrola sadnog materijala na lokaciji proizvodnje i proizvodnja u području u kom se bolest ranije nije javljala, korišćenje fitosanitarnog sertifikata prilikom uvoza sadnog materijala i voća iz područja gde je prisutna alternarijska lisna pegavost, pregled i testiranje sadnog materijala i voćaka i prilikom izvoza i prilikom uvoza i slično.

SUZBIJANJE

Ukoliko je u nekom području prisutna alternarijska lisna pegavost za kontrolu širenja i suzbijanje preporučuje se primena agrotehničkih mera kao i hemijska kontrola. Od agrotehničkih mera, značajno je gajenje otpornih sorti (Filajdić i Sutton, 1991; Sofi i sar., 2013a; Sawamura, 2014). Do danas međutim nisu identifikovani geni za otpornost. Postoje podaci o različitoj otpornosti pojedinih sorti u SAD (Filajdić i Sutton, 1991), ali nisu uočene rezistentne sorte. Kontrola bolesti doprinosi i poboljšavanje provetravanja u zasadu kroz sadnju sa odgovarajućim međurednim rastojanjem, orijentacijom redova i orezivanjem i slično.

Najznačajniji izvori inokuluma u zasadu su opali zaraženi listovi, kao i spore u naborima pupoljaka gde se patogen održava tokom zime. Zbog toga, održavanje higijene u zasadu predstavlja veoma značajnu meru kontrole bolesti. Mere sanitacije u cilju smanjenja količine inokuluma, kao što je uklanjanje ili zaoravanje opalih zaraženih listova, uklanjanje zaraženih plodova i orezivanje i uklanjanje drugih zaraženih biljnih organa, dezinfekciju preseka i alata prilikom orezivanja i slično, takođe mogu biti vrlo značajni. Kako je opalo lišće izvor konidija patogena, gde prezimljavaju i jaja grinja, primena malčiranja ili ručno sakupljanje i odnošenje lišća treba primeniti gde god je to moguće.

U sklopu hemijskog suzbijanja, protektivni tretmani fungicidima na bazi bakra preporučuju se u fazi mirovanja, pre formiranja nove lisne mase, u jesen ili rano proleće. Eventualna selektivna rezidba pupoljaka i grančica doprinosi smanjenju količine inokuluma i efikasnosti tretmana. Tokom vegetacije kontrola alternarijske lisne pegavosti može da se postigne primenom različitih aktivnih supstanci, a Filajdić i Sutton (1992b) navode da je u Severnoj Karolini, SAD, samo iprodion ispoljio zadovoljavajuću efikasnost. Više podataka o situaciji u Evropi može se pronaći u radu Madhu i sar. (2020).

ZAKLJUČAK

Zbog izuzetnog značaja jabuke u svetu i u Srbiji, alternarijska lisna pegavost koju izaziva kompleks vrsta sa različitim taksonomskim statusom, označene kao *A. alternata* ili *A. arborescens* kompleks vrsta predstavlja izazov za nauku i struku. Zbog različitog taksonomskog statusa prouzrokovaca, prisustvo i rasprostranjenost, značaj ali naročito karantinski status su složeni. Usaglašeno je da se prouzrokovac označava sa *A. alternata* patotip jabuke ili *Alternaria* spp. sa sitnim sporama, a karantinska regulacija ograničena je na izolate koji imaju sposobnost da biosintetišu toksin specifičan za domaćina, AM-toksin. U našoj zemlji povremeno se javlja lisna pegavost i pegavost ploda jabuke izazvana vrstama roda *Alternaria* i ovi izolati morfološki pripadaju grupi vrsta roda *Alternaria* koje formiraju sitne spore. Na osnovu petogodišnjih istraživanja (2013-2017.), u više područja gajenja jabuke u Srbiji, nije ustanovljeno prisustvo karantinskih patotipova sa sposobnošću biosinteze AM-toksina (nekada označavanih sa *A. mali*).

ZAHVALNICA

Rad je nastao kao rezultat istraživanja u okviru Ugovora o realizaciji i finansiranju naučnoistraživačkog rada u 2022. godini između Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije i Poljoprivredni fakultet – Univerzitet u Beograd, evidencioni broj 451-03-68/2022-14/200116.

LITERATURA

- Akimitsu, K., Tsuge, T., Kodama, M., et al. (2014): *Alternaria* host-selective toxins: determinant factors of plant disease. *Journal of General Plant Pathology*, 80: 109–122.
- Andersen, B., Smedsgaard, J., Jørring, I., Skouboe, P., and Pedersen, L. H. (2006): Real-time PCR quantification of the AM-toxin gene and HPLC qualification of toxigenic metabolites from *Alternaria* species from apples. *International Journal of Food Microbiology*, 111: 105–111.
- Armitage, A. D., Barbara, D. J., Harrison, R. J., Lane, C. R., Sreenivasaprasad, S., Woodhall, J. W., et al. (2015): Discrete lineages within *Alternaria alternata* species group: identification using new highly variable loci and support from morphological characters. *Fungal Biology*, 119, 994–1006. doi: 10.1016/j.funbio.2015.06.012
- Armitage, A. D., Cockerton, H. M., Sreenivasaprasad, S., Woodhall, J., Lane, C. R., Harrison, R. J., Clarkson, J. P. (2020): Genomics Evolutionary History and Diagnostics of the *Alternaria alternata* Species Group Including Apple

- and Asian Pear Pathotypes. *Frontiers in Microbiology*, 10:3124. doi: 10.3389/fmicb.2019.03124.
- Bhat, K. A., Peerzada, S. H., Anwar, A. (2015): *Alternaria* epidemic of apple in Kashmir. *African Journal of Microbiology Research*, 9(12):831-837.
- Bulajić, A. (1996): Proučavanje osnovnih odlika *Alternaria mali* novog patogena jabuke u Jugoslaviji. Magistarska teza, Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni Fakultet, pp. 1-74.
- Bulajić, A., Filajdic, N., Babovic, M., Sutton, T. B. (1996): First report of *Alternaria mali* on apples in Yugoslavia. *Plant Disease*, 80:709.
- EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health): Jeger, M, Bragard, C, Caffier, D, Candresse, T, Chatzivassiliou, E, Dehnen-Schmutz, K, Gilioli, G, Gregoire, J-C, Jaques Miret, J A, MacLeod, A, Navajas Navarro M, Niere B, Parnell S, Potting R, Rafoss T, Urek G, Van Bruggen, A, Van der Werf, W, West, J, Winter, S, Vicent, A, Vloutoglou, I, Bottex, B, Rossi, V, (2017): Scientific Opinion on the pest categorization of small-spored *Alternaria* carrying the genes for the AM- or AK-toxin biosynthesis. *EFSA Journal* 15(12):5099, 27 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5099>.
- Farr, D. F., Bills, G. F., Chamuris, G. P., Rossman, A. Y. (1989): *Fungi on Plants and Plant Products in the United States*. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, 1252 pp.
- Filajdic, N., Sutton, T. B. (1991): Identification and distribution of *Alternaria mali* in North Carolina and susceptibility of different varieties of apples to *Alternaria* blotch. *Plant Disease*, 75: 1045-1048.
- Filajdić, N., Sutton, T. B. (1992a): Influence of temperature and wetness duration on infection of apple leaves and virulence of different isolates of *Alternaria mali*. *Phytopathology*, 82, 1279– 1283.
- Filajdić, N., Sutton, T. B., (1992b): Chemical control of *Alternaria* blotch of apple caused by *Alternaria mali*. *Plant Disease*, 76, 126–136.
- Filajdić, N., Sutton, T. B. (1994): Spatial pattern of *Alternaria mali*, the causal agent of *Alternaria* blotch of apple. *Zastita Bilja*, 45, 311–319.
- Filajdić, N., Sutton, T. B. (1995): Overwintering of *Alternaria mali*, the causal agent of *Alternaria* blotch of apple. *Plant Disease*, 79, 695–698.
- Filajdić, N., Sutton, T. B., Walgenbach, J. F., Unrath, C. R. (1995a): The influence of European red mites on intensity of *Alternaria* blotch of apple and fruit quality and yield. *Plant Disease*, 79, 683–690.
- Filajdić, N., Sutton, T. B., Walgenbach, J. F., Unrath, C. R. (1995b): The influence of the apple aphid/spirea aphid complex on intensity of *Alternaria* blotch of apple and fruit quality characteristics and yield. *Plant Disease*, 79, 691–694.
- Fontaine, K., Fourrier-Jeandel, C., Armitage, A. D., Boutigny, A-L., Crépet, M., Caffier, V., Gnide, D. C., Shiller, J., Le Cam, B., Giraud, M., Ioos, R., Aguayo, J. (2021): Identification and pathogenicity of *Alternaria* species associated with

- leaf blotch disease and premature defoliation in French apple orchards. Peer J, 9:e12496 <http://doi.org/10.7717/peerj.12496>
- Gobber, M., Mattedi, L., Forno, F., Cappello, S., Piva, U., Marschall, K., Rizzolli, W. (2004): Nuova malattia del melo causata dal fungo *Alternaria alternata*. Terra Trentina, 6, 31–36.
- Harteveld, D. O. C., Akinsanmi, O. A., Drenth, A. (2013): Multiple *Alternaria* species groups are associated with leaf blotch and fruit spot diseases of apple in Australia. Plant Pathology, 62, 289–297.
- Harteveld, D. O. C., Akinsanmi, O. A., Becker, M. F., Drenth, A. (2014a): Comparative fitness of *Alternaria* species causing leaf blotch and fruit spot of apple in Australia. Australasian Plant Pathology, 43:495–501.
- Harteveld, D. O. C., Akinsanmi, O. A., Drenth, A. (2014b): Pathogenic variation of *Alternaria* species associated with leaf blotch and fruit spot of apple in Australia. European Journal of Plant Pathology, 139:789–799.
- Gur, L., Reuveni, M., Cohen Y. (2017): Occurrence and etiology of *Alternaria* leaf blotch and fruit spot of apple caused by *Alternaria alternata* f. sp. *mali* on cv. Pink lady in Israel. European Journal of Plant Pathology, 147, 695–708.
- Horlock, C. M. (2006): Management of *Alternaria* leaf and fruit spot in apples. Horticulture Australia Limited, Sydney, Australia, 76 pp.
- Johnson, R. D., Johnson, L., Kohmoto, K., Otani, H., Lane, C. R., Kodama, M. (2000): A polymerase chain reaction-based method to specifically detect *Alternaria alternata* apple pathotype (*A. mali*), the causal agent of *Alternaria* blotch of apple. Phytopathology 90: 973-976.
- Kang, H. W., Lee, B. R., Yu, S. H. (2003): Analysis of Genetic Relatedness in *Alternaria* species Producing Host Specific Toxins by PCR Polymorphism. Plant Pathology Journal, 19: 221-226.
- Kusaba, M., Tsuge, T. (1995): Phylogeny of *Alternaria* fungi known to produce host-specific toxins on the basis of variation in internal transcribed spacers of ribosomal DNA. Current Genetics, 28, 491–498. doi: 10.1007/bf00310821
- Lawrence, D. P., Gannibal, P. B., Peever, T. L., Pryor, B. M. (2013): The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. Mycologia 105: 530–546.
- Madhu, G. S., Nabi, S. U., Mir, J. I., Raja, W. H., Sheikh, M. A., Sharma, O. C., Singh. D. B. (2020): *Alternaria* leaf and fruit spot in apple: Symptoms, cause and management. European Journal of Biotechnology and Bioscience, 8: 24-26.
- Marschall, K., Bertagnoll, M. (2006): Patotipo di *Alternaria alternata* agente di maculatura lenticellare su frutti e di necrosi fogliari su melo in Alto Adige. Atti Giornate Fitopatologiche, 2, 93–96.
- Muneer, A. S., Bhat, K. M., Mir, J.I., Mir, M. A., Nabi, S. U., Bhat, M. A., *et al.* (2017): Phenotypic and molecular screening for disease resistance of apple cultivars and selections against apple scab (*Venturia inaequalis*) International Journal of Chemical Studies, 5(4):1107-1111.

- Nabi, S. U., Baranwal, V. K., Yadav, M. K., *et al.* (2020): Association of Apple necrotic mosaic virus (ApNMV) with mosaic disease in commercially grown cultivars of apple (*Malus domestica* Borkh) in India. 3 Biotech, 10:122.
- Nishimura, S., Kohmoto, K. (1983): Host-specific toxins and chemical structures from *Alternaria* species. Annual Review of Phytopathology, 21: 87–116.
- Ozgonen, H., Karaca, G. (2005): First report of *Alternaria mali* causing necrotic leaf spot of apples in Turkey. New Disease Reports 12: 21.
- Persley, D., Horlock, C. M. (2009): *Alternaria* leaf blotch and fruit spot of apple. In: Cooke T, Persley D and House S (eds.). Diseases of Fruit Crops in Australia. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia. pp. 31–32.
- Peter, A. K. (2017): Apple Disease - *Alternaria* Leaf Blotch, <https://extension.psu.edu/apple-disease-alternaria-blotch>
- Rotem, J. (1994): The Genus *Alternaria*. Biology, Epidemiology and Pathogenicity. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Rotondo, F., Collina, M., Brunelli, A., Pryor, B. M. (2012): Comparison of *Alternaria* spp. collected in Italy from apple with *A. mali* and other AM-toxin producing strains. Phytopathology, 102: 1130-1142.
- Sawamura, K., (2014): *Alternaria* blotch. In: Sutton TB, Aldwinckle HS, Agnello AM and Walgenbach JF, (eds.). Compendium of Apple and Pear Diseases and Pests, 2nd Edition. The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, USA. pp. 32–33.
- Simmons, E. G. (2007): *Alternaria*. An identification manual. In: CBS biodiversity series 6. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands.
- Sofi, T.A., Beig, M.A., Dar, Gh. H., Ahangar, F.A. Hamid, A. (2013a): Virulence variation in *Alternaria mali* (Roberts) and evaluation of systemic acquired resistance (SAR) activators for the management of *Alternaria* leaf blotch of apple. Emirates Journal of Food and Agriculture, 25: 196-204.
- Sofi, T. A., Beig, M. A., Dar, Gh. H., Ahmad, M., Hamid, A., Ahangar, F.A., Padder, B. A. Shah, M. D. (2013b): Cultural, morphological, pathogenic and molecular characterization of *Alternaria mali* associated with *Alternaria* leaf blotch of apple. African Journal of Biotechnology, 12: 370-381.
- Solemani, M., J., Esmailzadeh, M. (2007): First report of *Alternaria mali* causing apple leaf blotch disease in Iran. Australasian Plant Disease Notes, 2: 57-58.
- Thomma, B. P. H. J. (2003): *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. Mol. Plant Pathol. 4, 225–236. doi: 10.1046/j.1364-3703.2003.00173.x
- Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M., Crous, P. W. (2013): *Alternaria* redefined. Studies in Mycology, 75: 171–212.
- Woudenberg, J. H. C., Seidl, M. F., Groenewald, J. Z., de Vries, M., Stielow, J. B., Thomma, B. P. H. J., Crous, P. W. (2015): *Alternaria* section *Alternaria*: Species, *formae speciales* or pathotypes? Studies in Mycology, 82: 1–21.

Abstract

Alternaria spp. AND *A. mali* CAUSAL AGENTS OF APPLE LEAF BLOTCH

Aleksandra Bulajić and Mira Vojvodić

Faculty of Agriculture-University of Belgrade, Belgrade, Serbia

E-mail: bulajic_aleksandra@yahoo.com

Alternaria leaf blotch is a widespread disease of apple and is caused by multiple species with different taxonomic status. The most frequent are species *Alternaria alternata* and *A. arborescens* species complex. Due to complex taxonomy, collecting and discussing data on the presence and distribution, significance and especially quarantine status is complicated. Currently, recommended name for pathogen causing apple leaf blotch is *A. alternata* apple pathotype or *Alternaria* spp. with small spores, while quarantine regulation is limited to the isolates capable of biosynthesis of host-specific AM-toxin. In Serbia in some years leaf and fruit spot of apples can be observed. After a multi-year sampling of diseased plants, isolates belonging to small spored *Alternaria* were obtained. Nevertheless, after a five year long extensive research, the presence of quarantine producing AM-toxin pathotypes (previously *A. mali*) was not confirmed and thus *A. alternata* apple pathotype is not present in Serbia.

Key words: *Alternaria alternata*, taxonomic position, presence, AM-toxin, research in Serbia