

Neofabraea spp. sēņu morfoloģiskās īpatnības Morphological Characterization of *Neofabraea* spp. Fungi

Kristīne Vēvere, Inga Moročko-Bičevska
LLU Dārzkopības institūts

Abstract. The research on morphological characters of *Neofabraea* spp. fungi was carried out in the Unit of Plant Pathology and Entomology, Institute of Horticulture in 2016–2018. Isolates of the genus *Neofabraea*, after grouping into morphological groups, overlapped within the same species, but isolates that vary within one species were possible to divide into different criteria groups. Based on morphological characterization of the fungal isolates obtained from damaged fruits with bull's eye rot symptoms, it was concluded that fruit rot in the studied storages is caused by *N. perennans* and *N. alba*; however, most of the isolates were morphologically indistinguishable and varied between *N. alba*, *N. perennans* and *N. malicorticis*, therefore further molecular identification is required.

Key words: *Neofabraea*, bull's eye rot.

Ievads

Augļu koku audzētāji saskaras ar zaudējumiem, ko rada augļu bojāšanās audzēšanas un uzglabāšanas laikā. Daudzviet pasaulē augļu glabātavās izplatītākās ābolu un bumbieru slimības ir pelēkā puve (ier. *Botrytis cinerea* Pers.), zilais pelējums (ier. *Penicillium* spp.), augļu parastā puve (ier. *Monilinia* spp.), *Sphaeropsis* puve (ier. *Sphaeropsis pyripitrescens* C.L. Xiao & J.D. Rogers), *Phacidiopycnis* puve (ier. *Phacidiopycnis pyri* (Fuckel) Weindlm.) un vēršacs puve (ier. *Neofabraea* spp.).

Pētījumos par *Neofabraea* ģints sugām secināts, ka ābelēm un bumbierēm patogēnas ir vairākas sugas, no kurām izplatītākās ir *N. alba* (E.J. Guthrie) Verkley, *N. perennans* Kienholz, *N. malicorticis* (Cordley) H.S. Jacks. un *N. kienholzii* (Seifert, Spotts & Lévesque) Spotts, Lévesque & Seifert.

Pēdējos gados Latvijā ābolu glabāšanās laikā ir pieaudzis *Neofabraea* spp. ierosinātās vēršacs puves bojājumu skaits (0.33–50.88%) (Grantina-Ievina, 2015), salīdzinot ar citām slimībām. Iepriekš veiktajos pētījumos novērotās sugas mūsu teritorijā ir *N. alba* un *N. malicorticis* (Grantina-Ievina, 2015). Pētījuma mērķis bija raksturot un identificēt *Neofabraea* ģints sēņu izolātus, kuri ir izdalīti no vēršacs puves uz ābeļu un bumbieru augļiem.

Materiāli un metodes

Neofabraea spp. sēņu izpēte veikta Dārzkopības institūta (DI) Augu patoloģijas un entomoloģijas nodaļā no 2016. līdz 2018. gadam. Sēņu koloniju morfoloģiskās pazīmes novērtētas uz kartupeļu dekstrozes agara (PDA) un auzu

pārslu agara (OMA) barotnēm, aptuveni pēc 30 dienu inkubācijas. Izolātiem inkubācijas periodā nodrošināta temperatūra $+22\pm 1$ °C. Raksturota koloniju krāsa, barotnes krāsošanās, micēlija veids, koloniju malas, forma un diametrs (mm). Novērots, vai barotnē veidojas konidiālā sporulācija un teleomorfā stadija. Sporām mērīts platums un garums (μm) (Spotts et al., 2009; Vico et al., 2016).

DI laboratorijā iegūtie izolāti morfoloģiski identificēti, sagrupējot pazīmes grupās un salīdzinot ar izolātiem no starptautiski akreditētas mikroorganismu kolekcijas CBS-KNAW (turpmāk tekstā CBS) Nīderlandē, kas pētījumā tika pieņemti kā references izolāti. Izolāti izdalīti no vēršacs puves bojājumu vietām uz augļiem. No augļiem ņemta vieta starp veselo un puvušo daļu, kas sterilizēta 30–60 s 1.25% nātrija hipohlorīda šķīdumā un pēc tam uzlikta uz PDA barotnes, no kuras iegūta tīrkultūra.

Rezultāti un diskusija

No augļu glabātāvās esošiem augļiem, uz kuriem novēroti vēršacs puves bojājumi, iegūti sēņu izolāti ($n=45$). Iegūtie iespējamie *Neofabraea* spp. izolāti morfoloģiski salīdzināti ar CBS izolātiem, kas atbilst *N. alba*, *N. perennans*, *N. malicorticis* un *N. kienholzii* sugām.

Visi sēņu izolāti pēc micēlija krāsas iedalīti četrās grupās: brūngani pelēki, tumši pelēki (vietām balti), pelēcīgi balti ar rozīgu nokrāsu, un pelēcīgi balti (bez nokrāsas). No references izolātiem *N. alba* un *N. malicorticis* koloniju micēliju krāsas sugas ietvaros iedalījās divās grupās: brūngani pelēka un pelēcīgi balta ar rozīgu nokrāsu. Pēc micēliju krāsas, salīdzinot ar CBS izolātiem, 34 no izolātiem atbilst *N. alba* vai *N. malicorticis* sugai. *N. perennans* CBS izolātu micēliju krāsas ar dažādām niansēm atšķīrās no *N. alba* un *N. malicorticis*, sugas ietvaros iedaloties divās grupās: tumši pelēka, vietām balta un pelēcīgi balta. CBS *N. kienholzii* izolāts pēc micēlija krāsas bija līdzīgs vienam no *N. perennans* izolātiem – pelēcīgi baltā krāsā. Vienpadsmit no vēršacs puves izdalītiem izolātiem ietilpa šajās kategorijās.

Visi izolāti sagrupēti četrās grupās atkarībā no barotnes krāsošanās: nekrāso, krāsojas gaiši brūna (dzeltenīgi brūna), zaļganīgi dzeltena un dzeltenīga. Lielākā daļa sēņu izolātu barotni iekrāsoja zaļganīgi dzeltenu, kas atbilst *N. perennans*. Seši no jauniegūtajiem izolātiem barotni iekrāsoja dzeltenīgu, līdzīgi kā viens no *N. alba* references izolātiem.

Sēņu izolāti tika sagrupēti trīs grupās pēc kolonijas krokošanās: nekrokojas, krokojas tikai kolonijas malās un krokojas jau no kolonijas vidusdaļas. No references izolātiem micēlija krokojums sākot no kolonijas vidus tika novērots visiem *N. perennans*, *N. kienholzii* un vienam no *N. alba* izolātiem. Šajā grupā tika iekļauti 33 no jauniegūtajiem sēņu izolātiem. Vienam no *N. alba* izolātiem tika novērots, ka krokojas tikai kolonijas malas, šāda īpatnība bija arī astoņiem no augļu puves izdalītajiem izolātiem.

Visiem *Neofabraea* spp. bija iegremdēts micēlijs, ar minimālu gaisa micēliju kolonijas centrā. Literatūras avotos *Neofabraea* spp. sēnēm micēlijs tiek

aprašts kā klājenisks (Volkova, Juhņeviča-Radenkova, 2015), kas atbilst CBS un jauno izolātu raksturojumam arī šajā pētījumā.

Kā viena no raksturojošām pazīmēm bija koloniju malas: līdzenas vai nelīdzenas, veidojot sektorus. Līdzenas malas bija vienam CBS *N. alba* un *N. malicorticis* izolātam, un visiem *N. perennans* izolātiem. Sektorus veidoja lielākā daļa no *N. alba* izolātiem, kā arī *N. malicorticis* un *N. kienholzii*. Pirmajā grupā (līdzenas malas) ietilpa lielākā daļa no jauniegūtajiem izolātiem (n=23).

Sēņu koloniju augšanas ātrumu noteica, mērot koloniju diametru. Secināts, ka *Neofabraea* spp. atšķiras ar augšanas ātrumiem un vairākums *N. perennans* izolāti ir lēnāk augoši nekā *N. kienholzii*, *N. alba* un *N. malicorticis*. Pēc koloniju augšanas ātruma 22 no jauniegūtajiem sēņu izolātiem bija lēni augoši un to diametrs nepārsniedza 36 mm. Otra lēnāk augošā suga bija *N. kienholzii*, kurai līdzīgi bija deviņi no jauniegūtajiem izolātiem. Arī iepriekš veiktos pētījumos, secināts, ka *Neofabraea* spp. ir lēni augošas un Petrī platē parasti aizņem tikai 30–40% no barotnes (Volkova, Juhņeviča-Radenkova, 2015), kas atbilst arī jauniegūto izolātu lēnajai augšanai.

Veicot sēņu morfoloģisku raksturošanu, būtiska pazīme ir sporulācija. Teleomorfā sporulācija izolātiem netika novērota. Konidiālās sporulācijas raksturošanai izdalītas trīs grupas: ir novērota sporulācija, nav sporulācijas un minimāla sporulācija vecākām kolonijām (vismaz divi mēneši). Nevienam no references izolātiem konidiālā sporulācija mēnesi vecām kolonijām netika novērota. Diviem no *N. perennans* un vienam *N. malicorticis* izolātam pēc vismaz divu mēnešu inkubācijas novērota minimāla sporulācija. Diviem no jauniegūtajiem izolātiem mēnesi pēc uzsēšanas novērota sporulācija (mikrokonīdijas), bet vēl diviem konstatēta sporulācija uz vecākām kolonijām. Lielākai daļai izolātu (n=41) konidiālā sporulācija netika novērota. Izolātiem, kuriem novērota sporulācija, mikrokonīdijas ļoti variēja gan pēc izmēra, gan formas, tādēļ to morfoloģiska raksturošana nebija iespējama.

Amerikas Savienotajās Valstīs raksturotajām *Neofabraea* spp. mikrokonīdijas *N. kienholzii* izolātiem garumā variēja no 2.5 μm līdz pat 6.5 μm un platumā 1.5–2.5 μm, *N. malicorticis* mikrokonīdijas bija 5–8×1–1.5 μm, bet *N. perennans* mikrokonīdijas 6–10×1.5–3 μm (Spotts et al., 2009). Šāda mikrokonīdiju daudzveidība tika novērota arī šajā izmēģinājumā, kas apstiprina sarežģīto morfoloģisko raksturošanu pēc sporu dimensijām. Serbijas zinātnieki *N. perennans* makrokonīdijas raksturojuši kā taisnas vai nedaudz izliektas un *N. malicorticis* makrokonīdijas kā izliektas vai komata formā, bet secinājuši, ka sugas ietvaros konīdiju atšķirības ir lielas un *Neofabraea* spp. savā starpā ir viegli sajaukt (Vico et al., 2016).

Provizoriski pēc morfoloģiskajām īpatnībām, ņemot vērā vairāku kritēriju atbilstību kādai no CBS izolātu sugām, identificēti jauniegūtie sēņu izolāti. No šiem izolātiem 27% identificēti kā *N. perennans* un 11% kā *N. alba*. Tomēr lielāko daļu no izolātiem (62%) nebija iespējams identificēt sugas līmenī, jo pazīmes dalījās starp *N. alba*, *N. perennans* un *N. malicorticis*.

Secinājumi

Neofabraea ģints sugas pēc iedalīšanas morfoloģisko īpašību grupās savā starpā pārklājas, bet vienas sugas ietvaros izolāti var atšķirties un tikt iedalīti dažādās kritēriju grupās.

Morfoloģiski raksturojot sēņu izolātus, kas iegūti no vēršacs puves bojātiem augļiem, secināts, ka analizētajās augļu glabātavās puve izraisa *N. perennans* un *N. alba*, bet lielākā daļa (n=28) no izolātiem pēc morfoloģiskām pazīmēm svārstās starp *N. alba*, *N. perennans* un *N. malicorticis*, tādēļ papildus jāveic molekulārā identifikācija.

Pateicība. Pētījuma rezultāti, iegūti Valsts pētījumu programmas AgroBioRes Projekta Nr. 2 “Augļaugu ilgtspējīgu audzēšanu ietekmējošie bioloģiskie procesi un ražošanas blakusproduktu pielietojuma paplašināšana” (AUGĻI) ietvaros.

Literatūra

1. Grantina-Ievina, L. (2015). Fungi causing storage rot of apple fruit in integrated pest management system and their sensitivity to fungicides. *Rural Sustainability Research*, Vol. 34, No. 329, pp. 1–11.
2. Spotts, R.A., Seifert, K.A., Wallis, K.M., Sugar, D., Xiao, C.L., Serdani, M., Henriguez, J.L. (2009). Description of *Cryptosporiopsis kienholzii* and species profiles of *Neofabraea* in major pome fruit growing districts in the Pacific Northwest USA. *Mycological Research*, Vol. 113, Issue 11, pp. 1301–1311.
3. Vico, I., Duduk, N., Vasic, M., Zebeljan, A., Radivojevič, D. (2016). Bull's eye rot of apple fruit caused by *Neofabraea alba*. In: *ISHS Acta Horticulturae, III Balkan Symposium on Fruit Growing*, Belgrade, Serbia, August 25. Milatovic, D., Milivojevic, J., Nikolic, D. (eds) Vol. 2, pp. 733–738.
4. Volkova, J., Juhņeviča-Radenkova, K. (2015). Ābolu rūgtā puve – dažādi ierosinātāji, divas dažādas slimības. No: Zinātniski praktiskās konferences “Līdzsvarota lauksaimniecība” raksti (19.–20. febr.). Jelgava, LLU, 149.–152. lpp.