

No tomātiem iegūtu *Alternaria* sekcijas *Alternaria* izolātu raksturojums Baltijas reģionā

Characterization of *Alternaria* section *Alternaria* Isolates Obtained from Tomatoes in the Baltic Region

Lilija Dučkēna^{1,2}, *Nabahat Bessadat*^{2,3}, *Nelly Bataillé-Simoneau*², *Franck Bastide*², *Bruno Hamon*², *Mati Koppel*⁴,
*Kaire Loit*⁴, *Neringa Rasiukevičiūtė*⁵, *Gunita Bimšteine*¹,
*Philippe Simoneau*²

¹LPTF Augsnes un augu zinātņu institūts, ²Anžē universitāte, Francija, ³Oran1 Ahmed Ben Bella universitāte, Alžīrija,

⁴Igaunijas Dzīvības zinātņu universitāte, Igaunija,

⁵Lietuvas lauksaimniecības un mežsaimniecības pētniecības centra Dārzkopības institūts, Lietuva

Abstract. Fungal diseases caused by small-spored *Alternaria* spp. from the section *Alternaria* are one of the major limiting factors of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) production in the Baltic region. In our study, a total of 845 tomato samples with typical disease symptoms caused by *Alternaria* spp. were collected from greenhouses and high tunnels in Latvia, Lithuania and Estonia between 2022 and 2024. A total of 1181 fungal isolates were obtained, and 300 of them were selected for further characterization based on molecular data. Initial identification based on the single-locus phylogeny of internal transcribed spacer regions 1 and 2 and intervening 5.8S nrDNA (*ITS*) region confirmed the occurrence of four sections from the genus *Alternaria*, namely *Alternaria*, *Porri*, *Infectoriae*, *Ulocladioides*. Small-spored *Alternaria* strains from the section *Alternaria* were further identified at the species level based on multi-locus phylogeny of RNA polymerase II second largest subunit (*rpb2*), putative F-box-domain-containing protein (*ASA-10*), and putative histone-like transcription factor (*ASA-19*), and *A. alternata* (78%) and *A. arborescens* (20%) species complexes along with *A. postmessia* (2%) were identified on symptomatic tomatoes. Putative *alternata*-*arborescens* hybrids were identified on tomatoes in Latvia, and further analyses are required for these isolates.

Key words: *Alternaria* spp., tomato diseases, multi-locus phylogeny

Ievads

Tomāti (*Solanum lycopersicum* L.) ir ekonomiski nozīmīgi dārzeņi Baltijas reģionā. Mērenā klimata apstākļos viens no nozīmīgiem ražu limitējošiem faktoriem ir *Fungi* valsts patogēnu ierosinātas slimības, kas var radīt ievērojamus ražas zudumus. Tomātu lapu sauspīkumainība, ko ierosina sēnes no *Alternaria*

ģints, kas pieder *Ascomycota* nodalījumam, *Pleosporaceae* dzimtai, *Pleosporales* rindai, ir viena no ekonomiski nozīmīgākajām tomātu slimībām. Slimība bojā tomātu lapas, augļus, kā arī stublāju (Schmey et al., 2024).

Alternaria ģints sēņu sistematika nepārtraukti attīstās un šobrīd šajā ģintī ir iekļautas vairāk nekā 400 sugas, tostarp saprotrofī, endofīti un augu patogēni. Šis ģints sēnes ir sagrupētas 30 sekcijās (Ahmadpour et al., 2024; Woudenberg et al., 2013; Li et al., 2023). Tomātiem postīgākās sugas iekļautas *Alternaria* ģints *Porri* sekcijā. Šīs sekcijas sēnēm ir raksturīgas lielas konīdijas, to garums pārsniedz 60 μm (Woudenberg et al., 2014; Schmey et al., 2024). Uz tomātiem atrastas sugas, kas iekļautas arī *Alternaria*, *Ulocladioides* un *Infectoriae* sekcijās. Šo sugu konīdiju garums nepārsniedz 60 μm, tās veidojas ķēdītēs (Woudenberg et al., 2013; Schmey et al., 2024).

Šajā pētījumā uzmanība pievērsta *Alternaria* sekcijai *Alternaria*, jo tā bieži izolēta no simptomātiskiem tomātiem mērenā klimata apstākļos (Kokaeva et al., 2017). *Alternaria* sekcijā iekļautajām sugām raksturīga liela fenotipiskā daudzveidība, tāpēc precīzai sugu identificēšanai nepieciešams izmantot molekulāro analīžu datus (Woudenberg et al., 2013; Li et al., 2023). Pētījuma mērķis bija identificēt tomātu slimību ierosinātājus no *Alternaria* sekcijas *Alternaria* Baltijas reģionā, izmantojot molekulāri-ģenētiskās analīzes.

Materiāli un metodes

Pētījums veikts laikā no 2022. līdz 2024. gadam, tomātu intensīvas ražošanas sākumā (augusta pirmā dekāde) un intensīvas ražošanas beigās (septembra otrā dekāde) apsekojot 4 bioloģiskās un 13 konvencionālās saimniecības Latvijā, Lietuvā un Igaunijā.

Tomātu augu daļas ar vizuāli redzamiem slimības simptomiem ievāktas plēves, polikarbonāta un stikla seguma siltumnīcās, kā arī augstajos tuneļos ar daļēji regulējamu mikroklimatu. Sēņu izolēšana un patogēnu tīrkultūru iegūšana veikta LBTU LPTF Augsnes un augu zinātņu institūta Augu patoloģijas zinātniskajā laboratorijā. Bojātās augu daļas uzsētas uz kartupeļu dekstrozes agara (PDA) barotnēm un 7 dienas inkubētas 25 °C temperatūrā 12 h stundas gaismā un 12 h tumsā. Sēņu izolātu sākotnējai identificēšanai izmantotas morfoloģiskās pazīmes, tostarp micēlija krāsa, faktūra, augšanas īpatnības, barotnes krāsojums un sporulācija.

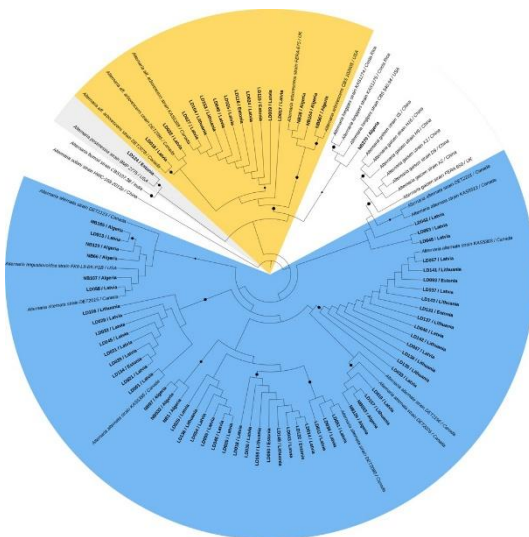
DNS izdalīšana un Sanger sekvencēšana veikta sadarbībā ar Francijas Nacionālo Lauksaimniecības, Pārtikas un Vides pētniecības institūtu (INRAe). Līdz ģints līmenim izolāti identificēti, izmantojot iekšējo transkribēto starplikas apgabalu 1 un 2 un starpposma 5.8S kodola ribosomālā DNS (*ITS*) reģionu. Sugu noteikšanai izmantoti RNS polimerāzes II otro lielāko subvienību (*rpb2*), iespējamo F-box domēnu saturošo proteīnu (*ASA-10*) un iespējamo histoniem līdzīgo transkripcijas faktoru (*ASA-19*) (Dettman, Eggertson, 2022; Dettman et al., 2023).

Rezultāti un diskusija

Pētījuma ietvaros ievākti 845 tomātu paraugi ar tipiskiem lapu sauspļankumainības simptomiem, un uz kartupeļu dekstrozes agara (PDA) barotnēm izdalīti 1181 sēņu izolāti. Analizējot izolātu morfoloģiskās pazīmes, tie iedalīti šādās grupās: *Alternaria* spp. ar mazām konīdijām ķēdītēm (48.7%, n=575), *Alternaria* spp. ar lielām konīdijām (10.6%, n=125) un *Stemphylium* spp. (5.1%, n=60), kā arī citas sēnes (35.6%, n=421).

Kopumā 300 sēņu izolāti ar atšķirīgām morfoloģiskajām pazīmēm izvēlēti turpmākām analizēm. Pēc ITS reģiona nukleotīdu secīncēm Baltijas reģionā identificētas četras sekcijas no *Alternaria* ģints, tostarp *Porri* (32%), *Infectoriae* (24%), *Alternaria* (22%) un *Ulocladioides* (1%). Starp analizētajiem paraugiem identificēti arī tuvradniecīgi *Stemphylium* ģints izolāti (21%), kas sakrīt ar citos pētījumos iegūtajiem rezultātiem (Bessadat et al., 2017; Schmey et al., 2024).

No sekcijas *Alternaria* biežāk identificēts *Alternaria alternata* sugu komplekss (78%, n=46), *A. arborescens* sugu komplekss (20%, n=12), kā arī *A. postmessa* (2%, n=1) (skat. Att.). Bioloģiskajā sistēmā audzētiem tomātiem Latvijā identificēti arī iespējamie *alternata*-*arborescens* hibrīdi, kuriem jāveic turpmākās analīzes (Dettman et al., 2023)



Att. Baltijas reģionā iegūto *Alternaria* sekcijas *Alternaria* izolātu molekulārās filogenēzes koks, kas izveidots pēc maksimālās ticamības (ML) metodes, izmantojot *rpb2*, *ASA-10* un *ASA-19* lokusu secīncas. Iegūtie *A. alternata* izolāti iekrāsoti zilā krāsā, *A. arborescens* dzeltenā krāsā un *A. postmessa* pelēkā krāsā.

Secinājumi

Veicot molekulāri-ģenētiskās analīzes *Alternaria* sekcijas *Alternaria* izolātiem, kas iegūti no simptomātiskiem tomātiem Baltijas reģionā no 2022. līdz 2024. gadam, biežāk identificēti *A. alternata* un *A. arborescens* sugu kompleksi, kā arī *A. postmessia* un iespējamie *alternata-arborescens* hibrīdi.

Pētījumi par tomātu sausplankumainību segtajās platībās pierāda, ka *Alternaria* sekcijā iekļauto slimību ierosinātāju loks ir plašs, turklāt dažādām sugām iespējama atšķirīga agresivitāte, izplatība, mijiedarbība ar saimniekaugu un jutība pret fungicīdiem.

Pateicība. Pētījumi veikti projekta Nr. 1.1.1.8/1/24/I/002 "LBTU doktorantu atbalsta un attīstības iniciatīva" (ER36) ietvaros.

Literatūra

1. Ahmadpour, A., Ghosta, Y., Alavi, Z., Alavi, F., Hamidi, L.M., Rampelotto, P.H. (2025). Morphological and molecular characterization of a new section and two new species of *Alternaria* from Iran. *Life*, 15(6), p.870.
2. Bessadat, N., Berruyer, R., Hamon, B., Bataill -Simoneau, N., Benichou, S., Kihal, M., Henni, D.E., Simoneau, P. (2017). *Alternaria* species associated with early blight epidemics on tomato and other *Solanaceae* crops in northwestern Algeria. *Eur. J. Plant Pathol.*, 148, pp. 181–197.
3. Dettman, J.R., and Eggertson, Q. (2022). New molecular markers for distinguishing the main phylogenetic lineages within *Alternaria* section *Alternaria*. *Can. J. Plant Pathol.* 44 (5), pp. 754–766.
4. Dettman, J.R., Eggertson, Q.A., Kim, N.E. (2023). Species diversity and molecular characterization of *Alternaria* section *Alternaria* isolates collected mainly from cereal crops in Canada. *Front. Microbiol.*, 14, 1194911.
5. Kokaeva, L.Y., Belosokhov, A.F., Doeva, L.Y., Skolotneva, E.S., Elansky, S.N. (2017). Distribution of *Alternaria* species on blighted potato and tomato leaves in Russia. *J. Plant Dis. Prot.*, 125(2), pp. 205-212.
6. Li, J.F., Jiang, H.B., Jeewon, R., Hongsan, S., Bhat, D.J., Tang, S.M., Lumyong, S., Mortimer, P.E., Xu, J.C., Camporesi, E., Phookamsak, R. (2023). *Alternaria*: Update on species limits, evolution, multilocus phylogeny, and classification. *Stud. Fungi.*, 8(1), pp. 1-61.
7. Schmey, T., Tominello-Ramirez, C.S., Brune, C., Stam, R. (2024). *Alternaria* diseases on potato and tomato. *Mol. Plant Pathol.*, 25(3), p.e13435.
8. Woudenberg, J.H.C., Truter, M., Groenewald, J.Z., Crous, P.W. (2014). Large-spored *Alternaria* pathogens in section *Porri* disentangled. *Stud. Mycol.*, 79, pp. 1-47.
9. Woudenberg, J.H.C., Groenewald, J.Z., Binder, M., Crous, P.W. (2013). *Alternaria* redefined. *Stud. Mycol.* 75 (1), pp. 171–212.