

Účinky kremíka na interakciu medzi cirokom a vybranými patogénnymi hubami

The effects of silicon on the interaction between sorghum and selected pathogenic fungi

MONIKA BATHÓOVÁ¹, BORIS BOKOR^{1,2}, PETRA MIKUŠOVÁ³ & MICHAL MARTINKA¹

¹ Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, bathoova2@uniba.sk

² Vedecký park Univerzity Komenského v Bratislave, Ilkovičova 8, 841 04 Bratislava, boris.bokor@uniba.sk

³ Centrum biológie rastlín a biodiverzity Slovenskej akadémie vied, Botanický ústav, Dúbravská cesta 9, 845 23 Bratislava, petra.mikusova@savba.sk

Abstract: The aim of our study was to determine the effects of silicon application on the interaction between *Sorghum bicolor* and two necrotrophic fungal species *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata*. Microscopic observations revealed a considerable retardation in fungal hyphae proliferation across root tissue layers in relation to silicon amendment. The impact of both root infection and silicon application was studied on selected shoot parameters. While silicon amendment enhanced the production of shoot biomass in infected plants, its effect on the concentration of photosynthetic pigments (chlorophyll *a* and *b*) was evaluated as not significant. We conclude that silicon application could have an interesting potential as an agronomic control strategy for root fungal diseases in sorghum.

Key words: *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, root, silicon, sorghum.

Úvod

Cirok dvojfarebný (*Sorghum bicolor* L. Moench) sa z hľadiska produkcie považuje za piatu najdôležitejšiu obilninu sveta, pričom jeho veľkou výhodou je schopnosť rásť aj na chudobnejších pôdach a v podmienkach relatívne nízkej závlahy. V mnohých krajinách tvorí jeden z kľúčových pilierov poľnohospodárstva, pričom nachádza bohaté využitie v potravinárskom, krmovinárskom i technickom priemysle (FAO 1999). Kvalita a kvantita úrody ciroku je každoročne znižovaná prítomnosťou širokého spektra hubových ochorení. Druhy *Fusarium oxysporum* a *Alternaria alternata* sú kozmopolitne rozšírené mikroskopické vlákňité huby, ktoré spôsobujú hnilobné ochorenia mnohých významných plodín (Leslie & Sumerell 2006; Woudenberg et al. 2013). Broggi et al. (2007) dokonca zistili, že druh *A. alternata* je najfrekvencovanejšie sa vyskytujúcim pozberovým patogénom ciroku. Kontrola výskytu a šírenia hubových ochorení si v súčasnosti vyžaduje špeciálnu pozornosť, najmä pre vzrastajúce obavy ohľadom bezpečnosti používania komerčne dostupných fungicídnych prostriedkov na syntetickej báze.

Kremík je polokov, ktorého prítomnosť predstavuje pre mnohé plodiny v podmienkach abiotického či biotického stresu určitú výhodu vo forme zvýšenia rezistencie plodiny voči danému stresovému faktoru (Liang et al. 2015). Pre svoje prospešné vlastnosti sa aplikácia tohto prvku v posledných rokoch skúma aj pre jeho potenciál pri zvýšení rezistencie plodín voči hubovým patogénom (Tatagiba et al. 2015; Whan et al. 2016; Bathoova et al. 2018). Využitie kremíka by pre poľnohospodárstvo predstavovalo ekonomicky výhodný i potenciálne environmentálne vhodný spôsob ochrany rastlín voči hubovým infekciám. Pre bezpečnú aplikáciu tohto prístupu do bežnej poľnohospodárskej praxe je však najskôr nevyhnutné zistiť mechanizmus účinku kremíka v rastlinnom metabolizme a určiť zmeny, ktoré môže jeho prítomnosť v rastlinnom organizme vyvolať.

Metodika

Pracovali sme s rastlinami ciroku dvojfarebného (*Sorghum bicolor* L. Moench) – kultivárom Gadambalia, ktorého zrná pochádzali zo zbierky Arid Land Research Center (Tottori, Japonsko) z roku 2000 a uskladňovali sa v suchu pri teplote 4 °C. Ďalej sme pracovali s druhmi mikroskopických vláknitých húb, a to konkrétne s kmeňom *Fusarium oxysporum* Schlecht. G.93 (získaný z Botanického ústavu Centra biológie rastlín a biodiverzity) a kmeňom *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (vlastný izolát).

Zrná ciroku sme povrchovo sterilizovali v 0,45 % vodnom roztoku chlórnanu sodného, nechali ich 4 h imbibovať v destilovanej vode a potom sme im mechanicky odstránili oplodie s cieľom zbaviť sa potenciálnej endogénnej kontaminácie. Zrná sme ešte raz povrchovo sterilizovali v 0,05 % vodnom roztoku HgCl₂ po dobu 6 min, dôkladne sme ich prepláchli sterilnou destilovanou vodou a v aseptických podmienkach laminárneho očkovacieho boxu vysievali na živné médiá do Petriho misiek. Pracovali sme s dvomi typmi živného média – bez prídavku kremíka (zloženie: ½ MS médium, 2 % sacharóza, 1 % agar; pH 5,8), s prídavkom kremíka (zloženie: ½ MS médium, 2 % sacharóza, 1 % agar, 1 mM Si v podobe roztoku kremičitanu sodného Na₂SiO₃; pH 5,8). V siedmy deň kultivácie sme rastliny preočkovali na čerstvé médiá bez prídavku kremíka (varianty -Si, -SiF, -SiA) a s prídavkom kremíka (+Si, +SiF, +SiA). Varianty -SiF a +SiF sme inokulovali druhom huby *F. oxysporum* a varianty -SiA a +SiA druhom *A. alternata*. Inokulácia rastlín prebehla umiestnením dvojtyždňového rozrasteného mycélia huby (s rozmerom 5 x 5 mm) na primárny koreň rastliny, a to do štvrtiny jeho dĺžky od bázy rastliny. Varianty -Si a +Si zostali intaktné, t.j. bez cielenej inokulácie hubou. Takto pripravený biologický materiál sme kultivovali po dobu ďalších 5 dní (t.j. do celkovej dĺžky kultivácie 12 dní). Všetok materiál sme po celú dobu experimentu kultivovali v *in vitro* kultivačnej komore na Katedre fyziológie rastlín (PriF UK v BA) s nasledujúcimi podmienkami: fotoperiódá 16/8 h (svetlo/tma), teplota 23 ± 2 °C, intenzita osvetlenia 120 μmol m⁻² s⁻¹ fotosynteticky aktívneho žiarenia.

Po uplynutí kultivačnej periódy sme nadzemné časti rastlín použili na stanovenie čerstvej biomasy a koncentrácie asimilačných pigmentov. Z rastlín sme pomocou žiletky odobrali nadzemné časti (bez zrna) a ich biomasu stanovili gravimetricky. Pre stanovenie koncentrácie asimilačných farbív (chlorofyl *a* a *b*) sme následne biomasu homogenizovali v trecej miske a extrahovali vo vy-

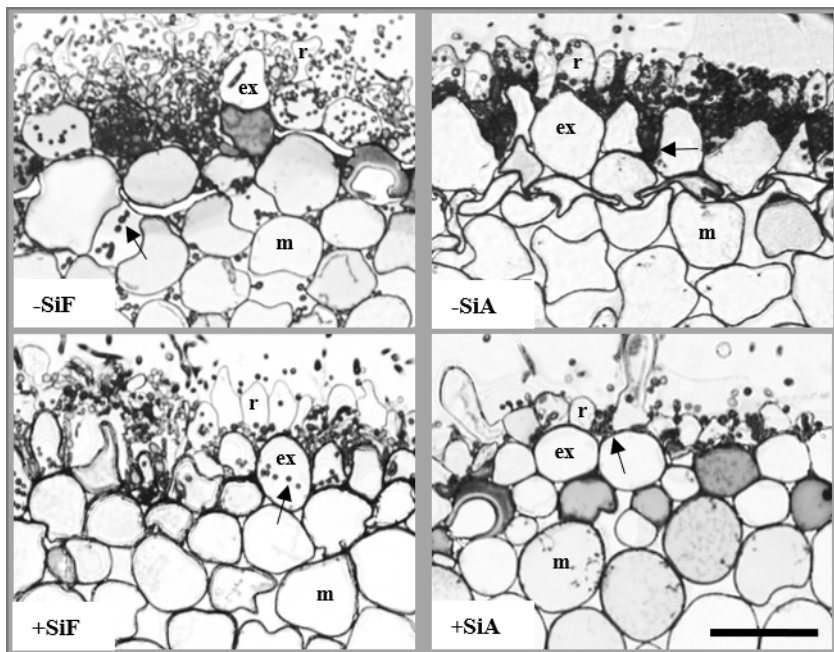
chladenom 80 % acetóne pomocou prídavku morského piesku a $MgCO_3$ (Ritchie 2006). Vzorky sme centrifugovali pri otáčkach 6000 rpm a teplote 4 °C po dobu 5 min. Koncentráciu chlorofylu *a* a *b* sme určovali zo supernatantu pri vlnových dĺžkach 663,2 nm (pre chl *a*) a 646,8 nm (pre chl *b*) (Jenway 6400, Krackeler Scientific) a stanovili na základe prepočtu podľa Lichtenthaler (1987).

Podzemné časti rastlín sme použili na analýzu prerastania húb v koreňoch. Pomocou žiletky sme odobrali z primárnych koreňov priamo spod miesta inokulácie segmenty dlhé 2 mm, ktoré sme následne fixovali, odvodnili a presýtli modifikovaným Spurovým médiom (podľa postupu uvedeného v Bathoova et al. 2018). Zo zaliatych vzoriek sme pomocou mikrotómu (Ultrotome Nova, LKB) pripravili priečne rezy s hrúbkou 2 μ m a farbili ich v roztoku 1 % toluidínovej modrej v 2,5 % Na_2CO_3 . Rezy sme pozorovali vo svetelnom mikroskope Axioskop 2 plus (Zeiss), a výsledné snímky sme zhotovili pomocou digitálnej kamery DP72 (Olympus) a softvéru Quick Photo Micro, v. 3.0 (Olympus).

Získané údaje sme štatisticky spracovali pomocou softvérov Microsoft Excel (Office 365) a STATGRAPHICS Centurion XV (v. 15.2.05, StatPoint, Inc.).

Výsledky a diskusia

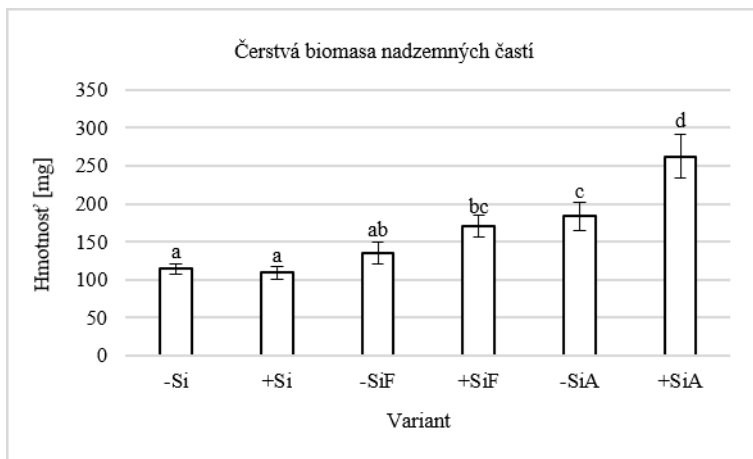
Pomocou svetelnej mikroskopie sme zistili, že aplikácia kremíka má na potlačenie infekcie primárnych koreňov ciroku dvojfarebného pozitívny účinok v prípade oboch druhov testovaných húb (obr. 1). V prípade druhu *Fusarium oxysporum* sme vo variante bez prídavku kremíka (-SiF) pozorovali prítomnosť hýf huby vo vysokej frekvencii vo vnútrbunkových aj medzibunkových priestoroch dvoch najperiférnejších vrstiev koreňa – rizodermy a exodermy. Prítomnosť hýf huby sme pozorovali aj v medzibunkových priestoroch mezodermálnych vrstiev koreňa. V prípade rastlín s prídavkom kremíka (variant +SiF) sme pozorovali ich schopnosť výrazne potlačiť inváziu hýf smerom z periférie koreňa do jeho centrálnej časti – hýfy huby sme vo vrstvách rizodermy a exodermy detegovali v oveľa menšom počte a vo vnútornejších vrstvách koreňa úplne absentovali. Druh *Alternaria alternata* prerastal vrstvami koreňa vo všeobecnosti pomalšie. Vo variante bez prídavku kremíka (-SiA) hýfy prerástli vnútro- i medzibunkové priestory rizodermy, no v masívnej miere sa nachádzali najmä v medzibunkových priestoroch medzi rizodermou a exodermou a taktiež medzi jednotlivými exodermálnymi bunkami. Naopak, vo variante s prídavkom kremíka (+SiA) sme pozorovali oveľa menší celkový počet a hustotu hýf v inokulovanom koreni. Okrem toho sme pozorovali aj potlačenie rýchlosti prerastania pletív v porovnaní s -SiA variantom – hýfy sa do vnútra buniek dostávali ojedinele a cez medzibunkové priestory dokázali prerásť len k periférnej bunkovej stene exodermy (priestory medzi bočnými stenami jednotlivých exodermálnych buniek zostali intaktné).



Obr. 1. Prerastanie hýf húb v pletivách koreňov jednotlivých variantov. Skratky: r, rizodermis; ex, exodermis; m, mezoderma; šípka, hýfa huby. Mierka = 50 μ m.

Fig. 1. Growth of fungal hyphae in root tissues of individual treatments. Abbreviations: r, rhizodermis; ex, exodermis; m, mesodermis; arrow, fungal hypha. Scale bar = 50 μ m.

Pozitívne účinky kremíka pri potlačení invázie hubových patogénov v koreňoch i nadzemných častiach rastlín zaznamenali viaceré štúdie (Mohaghegh et al. 2011; Fortunato et al. 2012, 2013; Resende et al. 2013; Tatagiba et al. 2014; Silva et al. 2015; Van Bockhaven et al. 2015a). Mechanizmus vedúci k týmto účinkom však nie je doteraz celkom objasnený. Jednou z možností je úloha nerozpustných zlúčenín tohto prvku v mechanickom spevnení extracelulárnych priestorov rastlinných pletív, napríklad spevnením rastlinných bunkových stien (Cai et al. 2008; Najihah et al. 2015; Silva et al. 2015) alebo v listoch vytvorením dvojvrstvy kremík-kutikula (Resende et al. 2013). Mnoho štúdií sa však zaoberá úlohou rozpustnej formy kremíka v metabolizme rastliny, ktorá môže priamo alebo nepriamo viesť k stimulácii aktivity antioxidantných enzýmov (Mohaghegh et al. 2011; Resende et al. 2012), enzýmov zapojených do biosyntézy sekundárnych metabolitov s obrannou funkciou (Cai et al.



Obr. 2. Čerstvá biomasa nadzemných častí jednotlivých variantov. Údaje sú priemery \pm SD, rôzne písmená poukazujú na signifikantný rozdiel v rámci jednotlivých variantov na hladine preukaznosti $P \leq 0,05$ (ANOVA, LSD test).

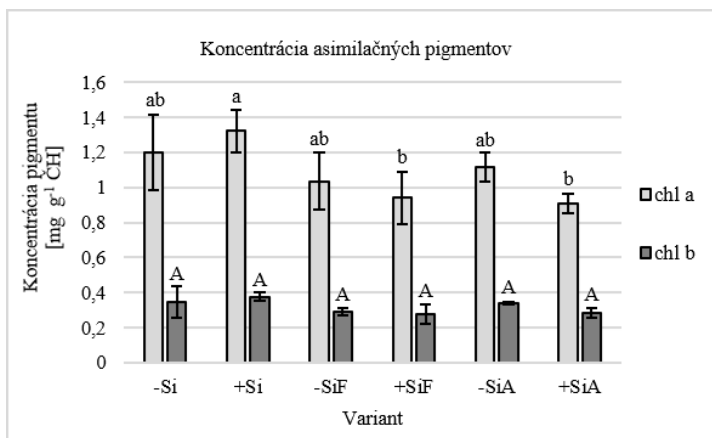
Fig. 2. Fresh shoot biomass of individual treatments. Values represent means \pm SD. Different letters indicate significant difference among the treatments at $P \leq 0.05$ (ANOVA, LSD test).

2008; Fortunato et al. 2012; Resende et al. 2013), zachovaniu alebo zvyšovaniu účinnosti fotosyntézy (Rios et al. 2014; Tatagiba et al. 2015) a modulácii signálnych dráh naviazaných na spúšťanie ďalších komponentov zvyšujúcich obranyschopnosť napadnutej rastliny (Van Bockhaven et al. 2015a; Vivancos et al. 2015).

Analýza čerstvej hmotnosti nadzemnej časti odhalila niekoľko trendov (obr. 2). Inokulácia koreňov ciroku vyústila do zväčšenia nadzemnej biomasy, avšak v interakcii s *F. oxysporum* toto zväčšenie nebolo štatisticky preukazné. Podobný jav zaznamenali aj Liu et al. (2018), kde však išlo o zväčšenie nadzemnej biomasy rastlín po inokulácii koreňov rôznymi druhmi arbuskulárno-mykorizných húb. Autorský kolektív Mohaghegh et al. (2011) naopak po inokulácii koreňového systému uhorky nezaznamenal zmenu v hmotnosti nadzemnej biomasy. Odlišnosť výsledkov pripisujeme ich závislosti od konkrétnej interakcie a závažnosti dopadu inokulácie na primárne postihnutú podzemnú časť.

Zväčšenie biomasy nadzemnej časti pri inokulácii koreňov možno vysvetliť stratégiou investovať energiu do nadzemnej biomasy za účelom zvýšenia miery fotosyntézy a tým tvorby energie pre efektívnejšiu celkovú obranu

rastliny. Po pridaní kremíka do substrátu sme pozorovali nepatrné zväčšenie biomasy v rastlinách infikovaných druhom huby *F. oxysporum* a výraznejšie zväčšenie biomasy v rastlinách infikovaných druhom huby *A. alternata* (v porovnaní s neinokulovanými rastlinami aj inokulovanými rastlinami bez prídavku kremíka). Podobný trend zaznamenalo viacero štúdií (French-Monar et al. 2010; Mohaghegh et al. 2011; Ning et al. 2014; Van Bockhaven et al. 2015b). Predpokladáme, že lepšia kondícia nadzemnej biomasy vyplývala najmä z lepšej kondície podzemnej biomasy podmienenej schopnosťou rastlín s prídavkom kremíka efektívnejšie potlačiť inváziu húb v pletivách koreňov (ako ukázali naše mikroskopické pozorovania). V prípade interakcie ciroku s druhom huby *A. alternata* sme v našej predošlej práci zistili, že korene rastlín s prídavkom kremíka mali v bunkových stenách exodermu väčší podiel suberínu a iných zlúčenín fenolických látok (Bathoova et al. 2018), ktoré môžu predstavovať štruktúrne spevnenie a vytvorenie efektívnejšej bariéry spomaľujúcej prerastanie hubového patogénu. Viacero štúdií potvrdilo kremíkom podmienenú stimuláciu aktivít enzýmov zapojených do biosyntézy dráhy fenolov a ich komplexnejších polymérov (Resende et al. 2013; Tagatiga et al. 2014), avšak presný mechanizmus tejto aktivity nie je doposiaľ objasnený.



Obr. 3. Koncentrácia asimilačných pigmentov chlorofylu *a* a *b* v nadzemných častiach jednotlivých variantov. Údaje sú priemery \pm SD, rôzne písmená poukazujú na signifikantný rozdiel v rámci jednotlivých variantov na hladine preukaznosti $P \leq 0,05$ (ANOVA, LSD test).

Fig. 3. The concentration of assimilation pigments chlorophyll *a* and *b* in shoots of individual treatments. Values represent means \pm SD. Different letters indicate significant difference among the treatments at $P \leq 0.05$ (ANOVA, LSD test).

Analýza koncentrácie asimilačných farbív, konkrétne chlorofylu *a* a *b*, neodhalila štatisticky preukazný rozdiel medzi variantmi bez prídavku a korešpondujúcimi variantmi s prídavkom kremíka (-Si vs +Si, -SiF vs +SiF, -SiA vs +SiA). V prípade chlorofylu *a* sme v inokulovaných variantoch zaznamenali určitú tendenciu – aj keď stále štatisticky nepreukaznú – tendenciu nižšej koncentrácie chlorofylu *a* v rastlinách s prídavkom kremíka (+SiF a +SiA). Mnoho štúdií naopak poukazuje na kremíkom podmienené zvyšovanie koncentrácie asimilačných farbív, avšak ide spravidla o štúdie zaoberajúce sa inokuláciou nadzemných častí rastlín, konkrétne listov (Rios et al. 2014; Tagatiba et al. 2015; Van Bockhaven et al. 2015b). Je možné, že pri inokulácii koreňov využíva rastlina iné mechanizmy a stratégie, a je nutné brať do úvahy aj celkovú povahu interakcie a závažnosť infekcie rastliny. Hoci sa v našich výsledkoch pri chlorofyle *a* črtá vyššie spomenutá tendencia, jej negatívna korelácia s hmotnosťou nadzemnej biomasy poukazuje na neprítomnosť závažných zmien v obsahu tohto pigmentu vzhľadom na celý objem nadzemnej časti.

V našej práci sme zistili, že exogénna aplikácia kremíka do živného média rastlín ciroku napomohla k efektívnejšiemu potlačeniu proliferácie oboch druhov patogénnych húb vo vnútri pletív koreňov. Infekcia koreňov a prídavok kremíka však mali v sledovanom rozsahu závažný dopad na študované parametre nadzemných častí (na biomasu a koncentráciu asimilačných pigmentov) len v prípade huby *A. alternata*. V tejto interakcii dosiahli rastliny s prídavkom kremíka o 44 % väčšiu hmotnosť nadzemnej biomasy v porovnaní s rastlinami bez prídavku kremíka (+SiA vs -SiA). Na základe nášho výskumu má teda aplikácia kremíka so zámerom obmedziť negatívne účinky hubových infekcií určitý potenciál, no považujeme za nevyhnutné vykonať ďalšie štúdie zaoberajúce sa mechanizmom jeho pôsobenia.

PodĎakovanie

Práca vznikla s finančnou podporou projektu VEGA 1/0755/16.

Literatúra

- Bathoova, M., Bokor, B., Soukup, M., Lux, A. & Martinka, M. 2018. Silicon-mediated cell wall modifications of sorghum root exodermis and suppression of invasion by fungus *Alternaria alternata*. *Plant Pathol.* 67: 1891–1900.
- Broggi, L. E., González, H. H. L., Resink, S. L. & Pacin, A. 2007. *Alternaria alternata* prevalence in cereal grains and soybean seeds from Entre Ríos, Argentina. *Rev. Iberoam. Micol.* 24: 47–51.
- Cai, K. Z., Gao, D., Luo, S. M., Zeng, R. S., Yang, J. Y. & Zhu, X. Y. 2008. Physiological and cytological mechanisms of silicon induced resistance in rice against blast disease. *Physiol. Plant.* 134: 324–333.

- FAO. 1999. SORGHUM: Post-harvest Operations. www.fao.org/3/a-ax443e.pdf, cit. 02. 05. 2019.
- Fortunato, A. A., Rodrigues, F. A. & Nascimento, K. J. T. 2012. Physiological and biochemical aspects of the resistance of banana plants to *Fusarium* wilt potentiated by silicon. *Phytopathology* 102: 957–966.
- Fortunato, A. A., Silva, W. L. D. & Rodrigues, F. A. 2013. Phenylpropanoid pathway is potentiated by silicon in the roots of banana plant during the infection process of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense*. *Phytopathology* 104: 597–603.
- French-Monar, R. D., Rodrigues, F. A., Korndörfer, G. H. & Datnoff, L. E. 2010. Silicon suppresses *Phytophthora* blight development on bell pepper. *J. Phytopathol.* 158: 554–560.
- Leslie, J. F. & Summerell, B. A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing, Iowa, USA. 388 pp.
- Liang, Y., Nikolic, M., Belanger, R., Gong, H. & Song, A. 2015. Silicon in agriculture. From theory to practice. Springer Netherlands, Dordrecht. 235 pp.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. *Method Enzymol.* 148: 350–382.
- Liu, Y., Feng, X., Gao, P., Li, Y., Christensen, M. J. & Duan, T. 2018. Arbuscular mycorrhiza fungi increased the susceptibility of *Astragalus adsurgens* to powdery mildew caused by *Erysiphe pisi*. *Mycology* 9: 223–232.
- Mohaghegh, P., Khoshgoftarmansh, A. H. & Shirvani, M. 2011. Effect of silicon nutrition on oxidative stress induced by *Phytophthora melonis* infection in cucumber. *Plant Dis.* 95: 455–460.
- Najjihah, N. I., Hanafi, M. M., Idris, A. S. & Hakim, M. A. 2015. Silicon treatment in oil palms confers resistance to basal stem rot disease caused by *Ganoderma boninense*. *Crop Prot.* 67: 151–159.
- Ning, D., Song, A., Fan, F., Li, Z. & Liang, Y. 2014. Effects of slag-based silicon fertilizer on rice growth and brown-spot resistance. *PLoS One* 9: e102681.
- Resende, R. S., Rodrigues, F. A., Cavatte, P. C., Martins, S. C., Moreira, W. R., Chaves, A. R. & Damatta, F. M. 2012. Leaf gas exchange and oxidative stress in sorghum plants supplied with silicon and infected by *Colletotrichum sublineolum*. *Phytopathology* 102: 892–898.
- Resende, R. S., Rodrigues, F. A., Gomes, R. J. & Nascimento, K. J. T. 2013. Microscopic and biochemical aspects of sorghum resistance to anthracnose mediated by silicon. *Ann. Appl. Biol.* 163: 114–123.
- Rios, J. A., Rodrigues, F. A., Debona, D. & Silva, L. S. 2014. Photosynthetic gas exchange in leaves of wheat plants supplied with silicon and infected with *Pyricularia oryzae*. *Acta Physiol. Plant.* 36: 371–379.
- Ritchie, R. J. 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynth. Res.* 89: 27–41.
- Silva, W. L. D., Cruz, M. F. A., Fortunato, A. A. & Rodrigues, F. A. 2015. Histochemical aspects of wheat resistance to leaf blast mediated by silicon. *Sci. Agric.* 72: 322–327.
- Tatagiba, S. D., Damatta, F. M. & Rodrigues, F. A. 2015. Silicon partially preserves the photosynthetic performance of rice plants infected by *Monographella albescens*. *Ann. App. Biol.* 168: 111–121.
- Tatagiba, S. D., Rodrigues, F. A., Filippi, M. C. C., Silva, G. B. & Silva, L. C. 2014. Physiological responses of rice plants supplied with silicon to *Monographella albescens* infection. *J. Phytopathol.* 162: 596–606.

- Van Bockhaven, J., Spíchal, L., Novák, O., Strnad, M., Asano, T., Kikuchi, S., Höfte, M. & De Vleeschauwer, D. 2015a. Silicon induces resistance to the brown spot fungus *Cochliobolus miyabeanus* by preventing the pathogen from hijacking the rice ethylene pathway. *New Phytol.* 206: 761–773.
- Van Bockhaven, J., Steppe, K., Bauweraerts, I., Kikuchi, S., Asano, T., Höfte, M. & De Vleeschauwer, D. 2015b. Primary metabolism plays a central role in moulding silicon-inducible brown spot resistance in rice. *Mol. Plant Pathol.* 16: 811–824.
- Vivancos, J., Labbe, C., Menzies, J. G. & Belanger, R. R. 2015. Silicon-mediated resistance of *Arabidopsis* against powdery mildew involves mechanisms other than the salicylic acid (SA)-dependent defence pathway. *Mol. Plant Pathol.* 16: 572–582.
- Whan, J. A., Dann, E. K. & Aitken, E. A. B. 2016. Effects of silicon treatment and inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* on cellular defences in root tissues of two cotton cultivars. *Ann. Bot.* 118: 219–226.
- Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M. & Crous, P. W. 2013. *Alternaria* redefined. *Stud. Mycol.* 75: 171–212.

Došlo 20. 6. 2019

Prijaté 7. 8. 2019