

МИНОБРНАУКИ РОССИИ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**ГРИБЫ РОДА *ALTERNARIA*, ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ НА ТЕРРИТОРИИ  
САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

**АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ**

студента 4 курса 422 группы  
направления 06.03.01 Биология  
биологического факультета  
Мамедова Вели Исламовича

Научный руководитель

к.б.н., доцент

\_\_\_\_\_ А.М. Петерсон

Зав. кафедрой

д.б.н., профессор

\_\_\_\_\_ С.А. Степанов

Саратов 2021

## Введение

**Актуальность темы.** Грибы рода *Alternaria* широко представлены в природе. Многие из них являются сапрофитами и развиваются на любых органических субстратах. Резервуаром для *Alternaria* являются отмирающие растения и растительные остатки, с которых грибок попадает в почву. Наряду с другими грибами *Alternaria* принимают участие в разложении и минерализации растительных остатков. Этому способствует огромный комплекс ферментов, обнаруженный у сапрофитных *Alternaria*.

Наряду с сапрофитическими видами, существует большое количество фитопатогенных *Alternaria*, поражающих широкий круг растений-хозяев. Альтернариозы проявляются в виде пятнистостей, гнилей, налетов и т.д. Вредоносность этих заболеваний обусловлена снижением фотосинтетической поверхности листьев, плесневением плодов и семян, уменьшением урожая и загрязнением сельскохозяйственной продукции микотоксинами и аллергенами [1].

Всего к роду *Alternaria* относят чуть менее 300 видов. Из них около 10 являются наиболее вредоносными на сельскохозяйственных культурах в России.

Грибы рода *Alternaria* широко распространены как во всем мире в целом, так и на территории Российской Федерации в частности. Чаще всего они встречаются на зерновых культурах (пшеница, ячмень, рожь, овес) и картофеле, реже на томатах, подсолнечнике, капусте, рапсе, моркови. Есть единичные упоминания и других культур в связи с поражением их альтернариозами (вика, горох, гречиха, земляника, кабачки, огурцы, просо, рис, свекла и тритикале). Степень поражения культур альтернариозами может колебаться от 5 до 100% в зависимости от региона, погодных условий сезона, режима проведения агротехнических мероприятий и др. [2]

Запутанность систематики рода *Alternaria* неоднократно побуждала исследователей проводить таксономические и номенклатурные ревизии [3]. За изменениями, происходившими в таксономии рода, следовали

реидентификации комплексов видов, встречающихся на разных культурах растений [4]. Таким образом, по многим регионам России, в том числе и по Саратовской области, отсутствуют какие-либо представления о циркулирующих там видах альтернарий.

**Цель и задачи исследования.** Целью данной работы стала оценка биоразнообразия грибов рода *Alternaria*, циркулирующих в агроценозах Саратовской области и круга сельскохозяйственных растений, которые они способны поражать. Для достижения указанной цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Выделить грибы рода *Alternaria* с поверхности листьев и плодов сельскохозяйственных растений, имеющих какие-либо патологии.
2. Изучить их культуральные и морфологические свойства.
3. Сравнить морфологию выделенных штаммов с морфологическими свойствами видов *Alternaria*, которые по литературным данным могут выделяться с данных видов растений.
4. Выявить спектр растений, у которых выделенные нами штаммы альтернарий могут вызывать какие-либо патологии плодов в условиях *in vitro*.

**Материал и методы исследования.** Посевы фрагментов поражённых растений проводили методом отпечатка на среду PDA (картофель – 200 г, агар-агар – 15 г, глюкоза – 20 г, вода – 1 л) для выделения фитопатогенных грибов. Брели участки на границе здоровой и поражённой ткани.

Посевы культивировали в течение 5-7 суток при +28°C. Затем проводили количественный учёт грибов и рассев на питательную среду для получения чистых культур.

Видовую принадлежность изолятов определяли по культуральным и морфологическим свойствам с помощью определителей Симмонса [5] и Ганнибала [6].

В качестве тест-объектов были использованы ткани плодов фруктовых деревьев: яблони, груши, сливы и овощей: томата, перца болгарского, огурца,

кабачка, т.е. тех видов растений, с которых нами ранее выделялись грибы рода *Alternaria*.

В стерильные чашки Петри заливали голодный агар, по мере застывания помещали на него фильтровальную бумагу, на которую накладывали диски, вырезанные из плодов площадью 1 см<sup>2</sup>. Эксперимент проводили в двух вариантах. В первом варианте верхняя часть растительного диска имела неповреждённые покровные ткани, во втором варианте верхняя часть диска представляла собой срез, лишённый покровных тканей. По литературным данным [7], проникновение альтернарий внутрь растительных тканей происходит, преимущественно, вследствие механического нарушения целостности покровных тканей (как результат питания насекомых, морозобоин, обрезки и др). Поэтому представляло интерес проследить, насколько интенсивность и сама возможность поражения растительных тканей будет зависеть от целостности покровной ткани тест-растения. На поверхность разложенных дисков петлёй наносили 5-суточную культуру исследуемого штамма гриба. Учёт результатов проводили на 7 и 24 сутки.

Для сравнения полученных результатов нами была разработана шкала, позволяющая оценить степень поражения тканей в условиях *in vitro*: 0 баллов — отсутствие поражений, 1 балл — поражено не более 50%, 2 балла — поражено 50-80%, 3 балла — поражено более 80 % площади тест-объекта.

**Структура и объем работы.** Работа изложена на 47 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы и список использованных источников. Работа проиллюстрирована 10 таблицами и 13 рисунками. Список использованных источников включает в себя 48 наименований.

### **Основное содержание работы**

В главе «Обзор литературы» представлена информация о морфологии и жизненном цикле грибов рода *Alternaria*, об основных токсинах, выделяемых грибами рода *Alternaria*, о заболеваниях растений, вызываемых грибами рода *Alternaria*, и их распространении в мире и в России, о

проблемах систематики грибов рода *Alternaria* и методах идентификации грибов рода *Alternaria*.

В главе «Результаты исследования» представлены результаты экспериментов по выделению грибов рода *Alternaria* на территории Саратовской области и изучению их фитопатогенных свойств.

В ходе проведённых исследований с поверхности растительного материала было выделено 73 штамма грибов рода *Alternaria*. Однако в чистую культуру в результате многочисленных рассевов на плотных питательных средах удалось выделить только 35 штаммов.

Доля альтернарий в микокомплексах изученных растений была неодинакова. Так, на плодах наибольшая доля *Alternaria* была характерна для перца болгарского (85%), томата (70%) и груши (65%). Доля альтернарий на плодах сливы была совсем незначительна (15%).

На листовых пластинках наибольшая доля альтернарий была отмечена у томата (85%).

Помимо альтернарий на поражённых растениях присутствовали грибы родов *Microascus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Aphanocladium*, *Sporidiobolus*, *Trichoderma*, *Aureobasidium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, некоторые из которых (например, *Thanatephorus cucumeris*) могут вызывать у растений аналогичные патологии [8].

Идентификация многих микромицетов и, в частности, видов *Alternaria* сопряжена с рядом трудностей, таких как сходство морфологических характеристик разных видов и одновременно внутривидовая вариабельность признаков. Определение видов *Alternaria* и мониторинг альтернариозов осложняется номенклатурной путаницей и отсутствием полноценных русскоязычных определительных ключей, учитывающих современную систематику рода. Поэтому мы изначально не ставили перед собой цель идентифицировать выделенные штаммы до вида. Нашей задачей было сравнение морфологических свойств наших штаммов с морфологией видов, которые по литературным данным могут выделяться с того или иного вида

растений. В качестве основного литературного источника по альтернариям на территории России мы взяли методическое пособие ведущего специалиста по альтернариозам в России Ф.Б. Ганнибала «Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*».

Штаммы, изолированные нами с растений в разных районах области были очень схожи между собой, но, как правило, сильно отличались по морфологии от видов, которые должны были изолироваться с этих видов растений по литературным данным.

Так, по литературным данным с плодов томата выделяется *A. tomatophila*, который является патогеном. Потери урожая плодов от заражения могут достигать 78%. С листьев томата по литературным данным выделяется *A. solani*, который также является патогеном. Потери урожая плодов от заражения могут достигать 20% [9]. Конидии изолированных нами штаммов значительно короче и не имеют апикального выроста.

По литературным данным с листьев и плодов огурцов и кабачков (тыквенных) кабачка выделяется *A. cucumerina*, который может быть причиной потери 30% урожая [10]. Большая часть выделенных нами изолятов сильно отличались от данного вида по строению конидий

С плодов сливы и малины по литературным данным выделяется *A. helianthi*, который является патогеном. Потери урожая, вызываемые данными грибами, достигает 8-84% [11]. Морфология изолированных нами штаммов существенно отличалась: конидии были мельче и имели заострённые вершины

Значительно различалась и морфология штаммов, изолированных с айвы японской, и *A. zinnia*, который, по литературным данным, должен выделяться с этого вида растений

Если проанализировать морфологию всех выделенных нами штаммов альтернарий, то можно сделать вывод, что на всех исследованных видах растений преобладали мелкоспоровые виды рода *Alternaria*: комплексы '*A. tenuissima*', '*A. alternata*' и '*A. arborescens*'. *A. tenuissima* был описан на многих

видах растений в разных частях света. По всей видимости, *A. tenuissima* чаще всего является вторичным патогеном либо вызывает заболевание ослабленных и поврежденных растений при благоприятных погодноклиматических условиях. Комплекс видов '*A. alternata*' включает около 60 морфологически сходных видов, многие из которых трудноотличимы друг от друга. Виды комплекса '*A. alternata*' распространены по всему миру и встречаются с очень высокой частотой, в том числе на всей территории России. Большинство видов комплекса '*A. alternata*' токсигенны, т.е. способны синтезировать микотоксины. '*A. arborescens*' очень близки к '*A. alternata*'.

Не смотря на сходство морфологии мелкоспоровых видов альтернарий, они существенно различаются по своим фитопатогенным свойствам, способности к синтезу микотоксинов, спектру поражаемых растений-хозяев. Поэтому на следующем этапе работы мы попытались выяснить, какие растения могут потенциально поражать изолированные нами штаммы альтернарий.

Для этих целей была сформирована выборка штаммов, схожих по морфологии, но изолированных с разных растений. Для инфицирования использовали плоды тех овощных культур и плодовых деревьев, с которых были изолированы исследуемые штаммы. Способность альтернарий поражать плоды во время хранения имеет большое хозяйственное значение, т.к. это может приводить к существенным потерям урожая.

При инфицировании плодов яблони на 7 сутки поражение среза плода уже было близко к максимальному (3 балла), в то время как нанесение грибов на покровную ткань тормозило их развитие, и степень поражения в большинстве случаев составляла лишь 1 балл.

При инфицировании плодов груши, напротив, не отмечалось различий в развитии поражений на срезе плода и на неповрежденной покровной ткани.

При инфицировании плодов сливы какой-либо закономерности выявлено не было: некоторые штаммы лучше развивались на срезах, некоторые на покровных тканях.

Интересен тот факт, что максимальные поражения тканей плодов фруктовых деревьев вызывал штамм, изолированный с плода томата (штамм 2).

При инфицировании плодов овощей теми же штаммами на 7 сутки степень поражения была значительно ниже и лишь в редких случаях достигала 2-3-х баллов, а в большинстве случаев степень поражения составляла 1 балл. Это может быть связано с меньшим количеством сахаров в плодах овощных культур.

Каких-либо явных закономерностей в поражении неповреждённых покровных тканей и срезов плодов здесь выявлено не было. Наиболее агрессивными оказались штаммы, изолированные с томатов (2 и 3) и малины (1 и 8).

На 24 сутки после инфицирования почти все тестируемые плоды фруктовых деревьев (91,6% проб) имели максимальную степень поражения в 3 балла, причём эта закономерность наблюдалась при обоих способах заражения. Единичные случаи слабого развития альтернатив были отмечены только на плодах яблонь при инфицировании некоторыми штаммами, причём такие варианты встречались и при инфицировании поверхности, и при инфицировании срезов.

Ткани плодов овощных культур на 24 сутки после инфицирования были по-прежнему меньше поражены, чем плоды фруктовых деревьев. Интересен тот факт, что в 22 % случаев более сильное поражение было отмечено при нанесении гриба на неповреждённые покровные ткани, чем на поверхность среза, лишь в 1,6% случаев более сильное развитие альтернатив наблюдалось при нанесении инфицирующего материала на срез плода и в 26,6% поражение тканей не зависело от способа инфицирования.



Наиболее агрессивными по-прежнему были штаммы, изолированные с томатов (2 и 3) и малины (1 и 8).

При сравнении интенсивности поражения тканей плодов разных тест-растений оказалось, что более интенсивно поражались ткани плодов фруктовых деревьев (средний балл поражения 2,8), в меньшей степени – плоды овощей (1,9).

При анализе вирулентности исследованных штаммов было установлено, что наиболее активно поражали ткани всех тест-растений штаммы 1,2,3.

Таким образом, наши исследования показали, что на растениях с признаками поражения альтернариозом на территории Саратовской области изолируются преимущественно не те узкоспециализированные виды, которые принято считать возбудителями альтернариозов этих растений, а комплекс мелкоспоровых видов, не обладающих строгой специфичностью по отношению к хозяину. Эти виды успешно циркулируют в агроценозах региона, и потенциально могут инфицировать многие сельскохозяйственные растения, вызывая различные патологии при их выращивании и дальнейшем хранении.

### **Выводы**

1. Грибы рода *Alternaria* присутствовали в микокомплексах всех исследованных видов растений с признаками альтернариозов. Наиболее значительна доля этих грибов была на плодах перца болгарского (85%), томата (70%) и груши (65%), на листовых пластинках томата (85%).
2. На растениях с признаками поражения альтернариозом на территории Саратовской области изолируются преимущественно не те узкоспециализированные виды, которые принято считать возбудителями альтернариозов этих растений, а мелкоспоровые *Alternaria* комплексов видов '*A. tenuissima*', '*A. alternata*' и '*A. arborescens*', которые способны поражать широкий круг растений-хозяев.

3. Изолированные нами штаммы альтернарий успешно размножались на тканях плодов всех использованных тест-растений (яблони, груши, сливы, томата, огурца, кабачка, болгарского перца). Более интенсивно поражались ткани плодов фруктовых деревьев (средний балл поражения 2,8), в меньшей степени – плоды овощей (1,9).
4. Выявлены различия в вирулентности исследованных штаммов альтернарий. Наиболее активно поражали ткани всех тест-растений штамм 1, изолированный с плодов малины (средний балл поражения 2,4) и штаммы 2 и 3, изолированные с плодов томата (средний балл поражения 2,5 и 2,6 соответственно).

#### **Список использованных источников**

1 Ганнибал, Ф.Б. Возбудители альтернариоза растений семейства крестоцветные в России: видовой состав, география и экология / Ф.Б. Ганнибал, Е.Л. Гасич // Микология и фитопатология. – 2009. – Т.43, № 5. – С. 79-88.

2 Ганнибал, Ф.Б. *Alternaria* spp. в семенах зерновых культур в России / Ф.Б. Ганнибал // Микология и фитопатология. – 2008. – Т.42, № 4. – С. 359-368.

3 Kohmoto, K. *Alternaria alternata* pathogens. Pathogenesis and Host Specificity in Plant Diseases. Histopathological, Biochemical, Genetic and Molecular Bases / K. Kohmoto, H. Otani, T. Tsuge // Eukaryotes. – 1995. – V.2, № 3 – P. 51-63.

4 Characterisation of *Alternaria* species-groups associated with core rot of apples in South Africa / M. Serdani [et al.] // Mycol. Resc. – 2002. – V.106, № 5. – P. 561-569.

5 Simmons, E.G. *Alternaria*. An Identification Manual / E.G. Simmons - Utrecht: CBS, 2007. – 775 p.

6 Ганнибал, Ф. Б. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria* / Ф.Б. Ганнибал // Россельхозакадемия – 2011. – № 4. – С. 70.

7 Tournas, V.H. Production of alternariol and alternariol methyl ether by *Alternaria alternata* grown on fruits at various temperatures / V.H. Tournas, M.E. Stack // Food Prot. – 2001. – V.64. – P. 528-532.

8 Ахатов, А.К. Болезни и вредители овощных культур и картофеля / А.К. Ахатов, Ф.Б. Ганнибал, Ю.И. Мешков // М.: Товарищество научных изданий КМК, 2013. – 463 С.

9 Rotem, J. The genus *Alternaria*. Biology, epidemiology and pathogenicity / J. Rotem – St.Paul: APS Press, 1994. – 326 P.

10 Latin, R. Modeling the relationship between *Alternaria* leaf blight and yield loss in muskmelon / R. Latin // Plant Dis. – 1992. – V.76. – P. 1013–1017.

11 Lagopodi, A.L. Effect of a leaf spot disease caused by *Alternaria alternata* on yield of sunflower in Greece / A.L. Lagopodi, C.C. Thanassouloupoulos // Plant Dis. – 1998. – V.82, № 1. – P. 41-44.