

ГРИБЫ РОДА *ALTERNARIA* NEES В СЕМЕНАХ ПОДСОЛНЕЧНИКА

М.В. Ивевбор,

кандидат сельскохозяйственных наук

С.Л. Саукова,

кандидат биологических наук

Т.С. Антонова,

доктор биологических наук

Н.М. Арасланова,

кандидат сельскохозяйственных наук

ГНУ ВНИИМК Россельхозакадемии

Россия, г. Краснодар, ул. Филатова, д. 17

Тел.: (861) 2758653

E-mail: maria-iwebor@mail.ru

Проанализировано 107 образцов семян подсолнечника, собранных в 2010–2013 гг. в районах Краснодарского и Ставропольского краев, Воронежской, Волгоградской, Пензенской, Ростовской и Саратовской областей Российской Федерации. Получено и идентифицировано 1330 моноконидиальных изолятов *Alternaria* sp. и нескольких других темноокрашенных гифомицетов. Доминировали неспециализированные мелкоспоровые виды *Alternaria*: *A. tenuissima* (Nees et T. Nees : Fr.) Wiltshire (67 %), *A. alternata* (Fr.) Keissl (13 %) и представители комплекса видов *A. infectoria* (16,5 %); встречался *A. arborescens* E.G. Simmons. Эти грибы поражали разные части семян: зародыши, плодовые и семенные оболочки. Специализированные виды встречались редко: один изолят *A. protenta* E.G. Simmons и два изолята *A. helianthi* (Hansford) Tubaki et Nishihara в образцах из Краснодарского края, семь изолятов *A. helianthiinficiens* E.G. Simmons, Walcz et R.G. Roberts – в образце из Саратовской области (в этом регионе зарегистрирован впервые). Также были выделены единичные изоляты *Stemphylium* sp., *Ulocladium* sp. и *Bipolaris australiensis* (M.B. Ellis) Tsuda & Ueyama.

Fungi of *Alternaria* nees genus in sunflower seeds. Iwebor M.V., Saukova S.L., Antonova T.S., Araslanova N.M.

107 samples of sunflower seeds collected in 2010–2013 in the districts of the Krasnodar, Stavropol, Voronezh, Volgograd, Penza, Rostov and Saratov regions of the Russian Federation were analyzed. 1330 mono-conidial isolates of *Alternaria* sp. and several other dark-colored hyphomycetes were received and identified. There were dominating non-specialized small-spored *Alternaria* species: *A. te-*

nissima (Nees et T. Nees: Fr.) Wiltshire (67 %), *A. alternata* (Fr.) Keissl (13 %) and the specimens of *Alternaria infectoria* species complex (16.5 %); there also was found *A. arborescens* E.G. Simmons. These fungi affected different parts of seeds: embryos, pericarps and seed coats. Specialized species were rarely found: one isolate of *A. protenta* E.G. Simmons and two isolates of *A. helianthi* (Hansford) Tubaki et Nishihara in the samples from the Krasnodar region; seven isolates of *A. helianthiinficiens* E.G. Simmons, Walcz et R.G. Roberts in the samples from the Saratov region (the first report of *A. helianthiinficiens* in this region of Russia). The single isolates of *Stemphylium* sp., *Ulocladium* sp. and *Bipolaris australiensis* (M.B. Ellis) Tsuda & Ueyama were also identified.

Ключевые слова: подсолнечник, альтернариоз, семенная инфекция, *Alternaria*, видовой состав, *Alternaria helianthi*, *Alternaria helianthiinficiens*, *Bipolaris australiensis*

УДК: 633.854.78:632.4:631.522.21

Подсолнечник – одна из основных масличных культур. Однако на количество и качество урожая способны существенно влиять поражающие семена патогены, среди которых грибы рода *Alternaria* Nees – одни из наиболее распространенных [1–4]. Инфицированность партий семян ими может превышать 90 % [4]. При этом значительно снижаются как посевные качества семян (энергия прорастания, всхожесть, жизнеспособность и продуктивность), так и пищевые: семена загрязняются опасными для человека и животных микотоксинами, изменяется жирно-кислотный состав, уменьшается масличность, повышается кислотное число масла [1; 5–8].

Род *Alternaria* включает большое количество видов, различающихся по экологическим свойствам. Часть видов – сапротрофы, а большинство – паразиты с различными специализацией и степенью паразитизма. Эти свойства связаны со способностью грибов рода синтезировать мико- и фитотоксины, которых более 70 [5; 6]. Некоторые из этих токсинов относят к опасным для человека и животных (например, продуцируемые *A. alternata* альтернариол, альтертоксин, альтернари-

ол монометил). Их часто обнаруживают в продукции сельскохозяйственных культур, а также в получаемых из них продуктах питания: зерне злаковых – муке и крупах из него; овощах, фруктах, соках, пасте и др. [6]. По данным EFSA (European Food Safety Authority) за 2011 г., по концентрации токсинов *Alternaria* sp. в продовольственной группе «Бобовые, орехи и масличные» лидируют семена и масло подсолнечника [6].

Несмотря на большое количество разносторонних исследований альтернариоза подсолнечника, видовой состав возбудителей болезни изучен мало. Во многих опубликованных работах приведены нелегитимные на сегодняшний день наименования видов, если о них вообще упоминается. В 2007 г. был издан определитель E.G. Simmons по *Alternaria* [9], однако названия видов по устаревшим определителям нередко продолжают использоваться до сих пор. В соответствии с этим определителем, помимо космополитных полусапротрофных, с подсолнечником ассоциировано не менее 11 видов рода [5].

Первая работа, направленная на выявление видов *Alternaria* на подсолнечнике в регионах Российской Федерации (в том числе и в Краснодарском крае), с использованием современных систематических положений и методов идентификации проведена Ф.Б. Ганнибалом (2011). Из листьев и семян подсолнечника им было выделено несколько видов, впервые в России был обнаружен специализированный к подсолнечнику вид *A. helianthi-inficiens* E.G. Simmons, Walcz et R.G. Roberts [5].

С 2010 г. мониторинг видов *Alternaria* на растениях и в семенах подсолнечника в Краснодарском крае и некоторых других регионах России начали проводить во ВНИИМК [10]. Цель исследования – определить видовой состав грибов рода *Alternaria* Nees в семенах подсолнечника из разных регионов Российской Федерации.

Материал и методы. Проводили фитоэкспертизу образцов семян разных генотипов подсолнечника, собранных в 2010–2013 гг. в ряде районов Краснодарского и Ставропольского краев, Воронежской, Волгоградской, Пензенской, Ростовской и Саратовской областей.

Для выделения микобиоты семена (по 100 штук каждого образца) поверхностно стерилизовали и помещали на питательную среду (голодный агар) в пластиковые чашки Петри диаметром 90 мм (по 10 штук в каждую) и инкубировали при 25 °С до появления конидиального спороношения или мицелия, характерных для *Alternaria* sp. Пересевали грибы рода *Alternaria* и подобные им, отмечая состояние пораженной семянки. Получали моноконидиальные изоляты, которые культивировали в пластиковых чашках Петри на картофельно-морковном агаре (КМА) при 25 °С под лампами дневного света (12-часовой фотопериод). Идентификацию видов *Alternaria* вели по определителю E.G. Simmons (2007) [9] и с помощью ключа, составленного Ф.Б. Ганнибалом (2011) [5], начиная с 3-х суток по 10-е (и позже – до появления спороношения), посредством микроскопа, анализируя габитус спороношения (наличие или отсутствие цепочек спор, их длину и тип ветвления), размер и форму конидий.

По 100 семянок шести образцов разных гибридов подсолнечника готовили аналогично, но перед закладкой на питательную среду посредством стерильных инструментов очищали от плодовой оболочки (лузги), ядра – от семенной оболочки. Части семянок (ядра, плодовые и семенные оболочки) проносили над пламенем горелки, раскладывали в чашки Петри на питательную среду. Инкубировали и идентифицировали проявившиеся грибы как описано выше.

Комплекс видов *A. infectoria* в тексте статьи обозначали как '*A. infectoria*'.

Результаты и обсуждение. За четыре года исследований видового состава возбудителей альтернариоза подсолнечника

было проанализировано 107 образцов семян сортов, гибридов и линий, собранных в районах Краснодарского и Ставропольского краев, Воронежской, Волгоградской, Пензенской, Ростовской и Саратовской областей. Образцы были инфицированы этими грибами на 3–58 %, что составило от 8 до 80 % в суммарной зараженности семян микрофлорой (разными грибами и бактериями). Было получено и идентифицировано 1330 моноконидиальных изолятов *Alternaria* и нескольких других темноокрашенных гифомицетов. Результаты анализов нескольких партий семян подсолнечника показаны в таблице 1.

Доминирующее положение занимали неспециализированные мелкоспоровые виды *Alternaria*. В каждом образце преобладал вид *A. tenuissima* (Nees et T. Nees:Fr.) Wiltshire. Во многих выборках семян присутствовали *A. alternata* (Fr.) Keissl и '*A. infectoria*', также встречался *A. arborescens* E.G. Simmons (единичные случаи). В нескольких образцах были обнаружены *Stemphylium* sp. и *Ulocladium* sp., близкородственные к *Alternaria* sp. Эти данные сходны с полученными Ф.Б. Ганибалом (2011) в результате исследования им альтернариозной микрофлоры в семенах подсолнечника из нескольких регионов РФ [5].

Крупноспоровые виды встречались редко. Из семян подсолнечника в некоторых странах (например, Индии, Ираке, Пакистане) регулярно выделяют *A. helianthi* [2; 11; 12]. Однако в наших исследованиях этот вид был выявлен только дважды: по одному изоляту в семенах урожая 2012 г. из Славянского и Белоглинского районов Краснодарского края (табл. 1).

В образце из Калининского района Краснодарского края урожая 2010 г. был обнаружен один изолят, идентифицированный по морфолого-культуральным признакам как *A. protenta* E.G. Simmons.

Семь изолятов *A. helianthiinficiens* выделено из семян, собранных в 2013 г. в Саратовской области; в данном регионе

этот малоизученный вид, специализированный к подсолнечнику, зарегистрирован впервые. До этого случая в Российской Федерации *A. helianthiinficiens* был найден в Алтайском (в семенах подсолнечника) и Краснодарском краях (на листьях) [5; 10].

В семенах, собранных в Кореновском районе Краснодарского края в 2010 г., был найден один изолят вида *Bipolaris australiensis* (M.B. Ellis) Tsuda & Ueyama (телеоморфа *Cochiobolus australiensis* (Tsuda & Ueyama) Alcorn). На подсолнечнике в Российской Федерации вид был обнаружен впервые [10].

Соотношение видов по результатам идентификации всех 1330 изолятов, выделенных из семян подсолнечника, представлено на рисунке.

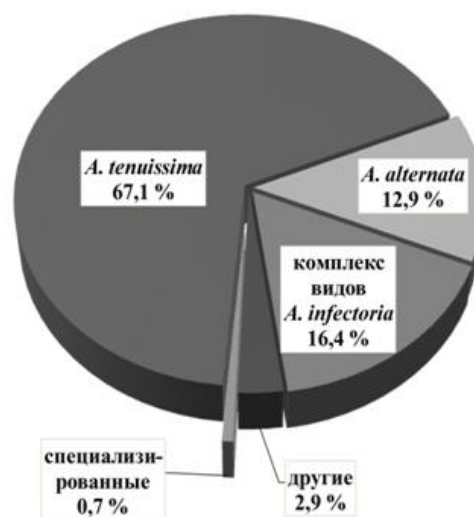


Рисунок – Соотношение видов рода *Alternaria* и других плеоспоровых грибов, выделенных из семян подсолнечника (урожаи 2010–2013 гг.): другие – *A. arborescens*, *Stemphylium* sp., *Ulocladium* sp., *B. australiensis* и неидентифицированные изоляты *Alternaria*; специализированные к подсолнечнику – *A. protenta*, *A. helianthiinficiens*, *A. helianthi*

Специализированные к подсолнечнику виды *A. helianthi* и *A. helianthiinficiens* составили менее 1 %. Более 95 % принадлежало мелкоспоровым видам *Alternaria*,

Таблица 1

Инфицированность образцов семян подсолнечника грибами рода *Alternaria* и другими темноокрашенными гифомицетами

ЦЭБ ВНИИМК, 2010–2013 гг.

№	Регион/район сбора	Хозяин ¹	Год сбора урожая	Изоляты ² , шт.					
				всего	<i>A. tenuissima</i>	<i>A. alternata</i>	' <i>A. infectoria</i> '	другие	
1	Воронежская область	Гибрид	2010	19	14	1	2	<i>Stemphylium</i> sp. – 1, <i>Alternaria</i> sp. ³ – 1	
2	Волгоградская область	Гибрид	2011	40	19	5	14	<i>A. arborescens</i> – 2	
3		Гибрид1		31	21	3	6	<i>Ulocladium</i> sp. – 1	
4		Гибрид		18	7	2	6	<i>Alternaria</i> sp. – 3	
5		Гибрид	2012	21	15	5	1	-	
6		Сорт		12	8	-	4	-	
7		Сорт		29	25	-	2	<i>Stemphylium</i> sp. – 1	
8		Гибрид1	2013	20	14	4	2	-	
9		Гибрид		15	11	3	-	<i>A. arborescens</i> – 1	
10		Ростовская область	Гибрид	2013	24	16	6	-	<i>A. arborescens</i> – 2
11	Пензенская область	Сорт1	2012	14	14	-	-	-	
12	Саратовская область	Сорт1	2012	22	14	1	-	<i>A. helianthiinficiens</i> – 7	
13		Гибрид	2013	34	20	10	4	-	
14	Ставропольский край	Сорт	2012	14	11	1	2	-	
Районы Краснодарского края									
15	Кореновский	Гибрид 2	2010	15	10	1	3	<i>B. australiensis</i> – 1	
16			2011	26	14	1	10	<i>Alternaria</i> sp. – 1, <i>Stemphylium</i> sp. – 1	
17				Гибрид	32	14	8	9	<i>Alternaria</i> sp. – 1
18			Линия1	18	5	6	7	-	
19		2012	Линия	6	4	-	2	-	
20			Линия	14	9	4	1	-	
21		г. Краснодар	Линия1	2011	32	13	4	13	<i>A. arborescens</i> – 2
22					40	22	6	12	-
23	Линия		48	30	3	12	<i>Alternaria</i> sp. – 1, <i>Stemphylium</i> sp. –, <i>Ulocladium</i> sp. – 1		
24	Гибрид 2		2013	20	16	3	1	-	
25	Калининский	Гибрид 2	2010	34	24	-	6	<i>A. protenta</i> – 1, <i>A. arborescens</i> – 1	
26	Славянский	Линия	2012	16	12	1	2	<i>A. helianthi</i> – 1	
27	Белоглинский	Сорт		19	11	2	3	<i>A. helianthi</i> – 1, <i>Alternaria</i> sp. –	
28	Крыловский	Гибрид		30	23	3	2	<i>Alternaria</i> sp. – 1, <i>Stemphylium</i> sp. – 1	

Примечание: ¹ - образцы обезличены, одинаковые генотипы отмечены цифрами (1, 2); ² - моноконидиальные изоляты; ³ - *A. alternata*-подобные изоляты, которые не смогли по морфологическим признакам идентифицировать до вида

причем существенно превалировал *A. tenuissima*, достигнув 67 %; '*A. infectoria*' и *A. alternata* составили порядка 16 и 13 % соответственно.

За несколько лет исследований были проанализированы образцы семян подсолнечника разных линий, сортов и гибридов, выращенных в нескольких агроклиматических зонах страны. Выборки семян различались по степени инфицированности и составу видов *Alternaria* и других плесневых грибов. Однако по данным, полученным в ходе эксперимента, связь между генотипом подсолнечника и зараженностью семян этими грибами не выявлена. Это отображено и в обобщающей многолетней работе А.Д. Бочковского с соавторами (2013): инфицированность семян первого поколения гибридов Меркурий и Гермес в среднем за 2008–2011 гг. была примерно одинаковой (22 и 24 % соответственно), но значительно колебалась по отдельным годам (от 7 до 37 % у Меркурия и от 3 до 44 % у Гермеса). Авторы также анализировали посевные качества этих семян, установив, что инфекционное начало патогенов не оказывало на них существенного влияния: лабораторная всхожесть оставалась на уровне 87–99 % – независимо от степени зараженности образцов [13].

При изоляции грибов мы учитывали состояние пораженной семянки: загнила она либо проросла и проросток развивается. Обе семянки, пораженные *A. helianthi*, и четыре из семи, инфицированных *A. helianthiinficiens*, не проросли. Почти половина семянок, пораженных *A. tenuissima*, *A. alternata* и '*A. infectoria*' (каждого вида в отдельности), была невсхожа, или проросток загнивал, покрываясь колонией гриба. Безусловно, в лабораторных опытах негативное воздействие *Alternaria* sp. на инфицированные семена усиливается, т.к. искусственно обеспечиваются наиболее благоприятные для развития этих грибов условия (освещенность, влажность и температура, отсутствие лимитирующих факторов био-

генного характера), и в полевых условиях всхожесть могла быть выше.

Известно, что всхожесть семян подсолнечника при инфицированности этими грибами плодовой оболочки снижается незначительно и существенно – в случае поражения ядер. Это отмечено, например, в публикациях В.Г. Светова (1976), В.М. Лукомца с соавторами (2011) [1; 14]. D. Singh и S.B. Mathur (2004) констатировали, что мицелий *A. alternata* (по старой систематике) в семянках без внешних признаков поражения обнаруживался в семенной и плодовой оболочках, а в сильно инфицированных – во всех частях, включая зародыш [15].

Нами был проведен опыт на шести образцах семян, в котором по отдельности анализировали части семянок: зародыша, плодовые и семенные оболочки. Полученные данные представлены в таблице 2.

Таблица 2

Поражение семянок подсолнечника мелкоспоровыми видами *Alternaria*, %

ЦЭБ ВНИИМК, 2013 г.

Вариант ¹	Срок хранения семян, месяцев	Части семянки		
		плодовая оболочка	семенная оболочка	зародыш
1	4	23	12	6
2	4	27	24	12
3	4	22	19	12
4	4	10	9	6
5	16	63	62	57
6	16	41	41	37

Примечание: ¹ – различные гибриды

Как видно из данных таблицы 2, в каждом из образцов грибами рода *Alternaria* были поражены все части семянок. Идентификация показала, что все выделенные грибы рода *Alternaria* принадлежали к мелкоспоровым видам. В образцах 1–4, хранившихся менее года, наибольшая часть инфекции находилась в плодовой оболочке, а зародыши были заражены в наименьшей степени. Следует отметить, что большая часть семянок с пораженными ядрами в этих вариантах имела механические повреждения. Вероятно, в случае отсутствия последних, определен-

ное время плодовая и семенная оболочка способны ограничивать распространение патогена к зародышу. Варианты 5 и 6 были представлены семенами, хранящимися более года. В них все части семян были поражены в почти одинаковой степени, хотя не более 15 % инфицированных ядер имело признаки механических повреждений (в т. ч. насекомыми). Степень инфицированности этих образцов изначально, условия их возделывания, уборки и хранения неизвестны, но возможно, происходило распространение патогена вглубь семян в период хранения.

Таким образом, в семенах подсолнечника, собранных в семи регионах России, преобладали мелкоспоровые виды *Alternaria* с доминированием *A. tenuis-sima*. Эти грибы присутствовали в разных частях семян: зародышах, плодовых и семенных оболочках. Специализированные виды *A. helianthi*, *A. helianthiinficiens* и *A. protenta* встречались крайне редко. Также были выделены единичные изоляты *Stemphylium* sp., *Ulocladium* sp. и *B. australiensis*.

Список литературы

1. Лукомец В.М., Пивень В.Т., Тишков Н.М. Болезни подсолнечника. – Агрорус. – 2011. – 210 с.
2. Abdullah S.K., Al-Mosawi K.A. Fungi associated with seeds of sunflower (*Helianthus annuus*) cultivars grown in Iraq // *Phytopathologia*. – 2010. – V. 57. – P. 11–20.
3. Lević J., Stanković S., Krnjaja V. [et al.]. Distribution frequency and incidence of seed-borne pathogens of some cereals and industrial crops in Serbia // *Pestic. Phytomed. (Belgrade)*. – 2012. – № 27 (1). – P. 33–40.
4. Шуляк И.И. Патогенная микрофлора семян подсолнечника в условиях Краснодарского края // *Защита и карантин растений*. – 2009. – № 2. – С. 23–25.
5. Ганнибал Ф.Б. Видовой состав, систематика и география возбудителей альтернариозов подсолнечника в России // *Вестник защиты растений*. – 2011. – № 1. – С. 13–19.
6. EFSA on contaminants in the food chain (CONTAM); scientific opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food / *EFSA Journal*. – 2011. – № 9 (10). – 97 p. doi:10.2903/j.efsa.2011.2407. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal.
7. Мурадасилова Н.В., Пивень В.Т. Симптомы поражения альтернариозом центрального корня проростка подсолнечника // *Защита и карантин растений*. – 2006. – № 2. – С. 52–53.
8. Пикалова Н.А. Фенотипическая изменчивость кислотного числа масла в семенах подсолнечника / Наталья Алексеевна Пикалова // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Краснодар, 2009. – 24 с.
9. Simmons E. G. *Alternaria*. An Identification Manual. – Utrecht: CBS. – 2007. – 775 p.
10. Ивобор М.В., Антонова Т.С., Саукова С.Л. К вопросу о возбудителе альтернариоза подсолнечника // *Масличные культуры: Науч.-тех. бюл. ВНИИМК*. – 2013. – Вып. 1 (153–154). – С. 90–100.
11. Wagan K.H., Pathan M.A. and Jiskani M.M. Effect of *Alternaria helianthi* on disease development, germination and seed quality in sunflower // *Pakistan J. Agri., Agril. Engg., Vet. Sc.*, 2006. – V. 22 (1). – P. 26–29.
12. Mesta R.K., Deshpande V.K., Kurdikeri M.B. and Kulkarni V.R. Influence of mother plant infection with varied grades of *Alternaria helianthi* on seed quality during storage // *Karnataka J. Agric. Sci.* 206. – V. 19 (1). – P. 149–153.
13. Бочковой А.Д., Антонова Т.С., Камардин В.А. [и др.]. Патогенная микрофлора семян самоопыленных линий и гибридов подсолнечника, выращенных в центральной зоне Краснодарского края // *Масличные культуры: Науч.-тех. бюл. ВНИИМК*. – 2013. – Вып. 1 (153–154). – С. 120–124.
14. Светов В.Г. Альтернариоз подсолнечника и качество семян // *Селекция и семеноводство*. – 1976. – № 5. – С. 72–75.
15. Singh D., Mathur S.B. *Histopathology of Seed-Borne Infections* // CRC Press, 2004. – 296 p.