

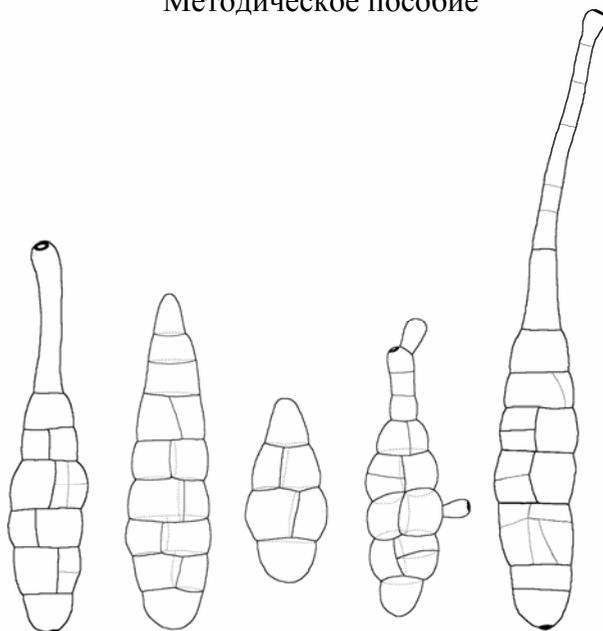
Российская академия сельскохозяйственных наук
Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР)

Russian Academy of Agricultural Sciences
All-Russian Institute of Plant Protection (VIZR)

Ганнибал Ф.Б.

**МОНИТОРИНГ АЛЬТЕРНАРИОЗОВ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР И
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГРИБОВ РОДА *ALTERNARIA***

Методическое пособие



Санкт-Петербург
2011

Российская академия сельскохозяйственных наук
Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР)

Russian Academy of Agricultural Sciences
All-Russian Institute of Plant Protection (VIZR)

Ганнибал Ф.Б.

**МОНИТОРИНГ АЛЬТЕРНАРИОЗОВ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР И
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГРИБОВ РОДА ALTERNARIA**

Методическое пособие

Санкт-Петербург
2011

Ганнибал Ф.Б.

Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*. Методическое пособие.

Научный редактор – академик РАСХН М.М. Левитин

Рецензент – член-корр. РАСХН О.С. Афанасенко

Работа выполнена в рамках плана фундаментальных и приоритетных прикладных исследований Россельхозакадемии по проблеме 5, заданию 05.01.02 на 2011 г. «Разработать эффективные методы фитосанитарного мониторинга и прогноза фитосанитарной обстановки с использованием современных биологических, генетических и молекулярных анализов, информационных технологий, дистанционных исследований и других достижений научно-технического прогресса» при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (государственный контракт 16.518.11.7068 «Развитие таксономического подхода к поиску продуцентов новых биологически активных соединений с использованием коллекций грибов (Микологического гербария и Коллекции микроорганизмов) Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений») и РФФИ (грант 09-04-13753-офи_ц «Биоразнообразие грибов рода *Alternaria* и устойчивость сельскохозяйственных культур к альтернариозам»).

Издание одобрено методической комиссией по фитопатологии ГНУ ВИЗР Россельхозакадемии (протокол № от 26 .09.2011).

© Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ГНУ ВИЗР Россельхозакадемии), 2011

© All-Russian Institute of Plant Protection RAAS (VIZR), 2011

О г л а в л е н и е

Введение	4
1. Общая информация об альтернариозах	5
1.1. Симптомы	5
1.2. Распространение	5
1.3. Вредоносность	6
2. Мониторинг альтернариозов	9
2.1. Анализ симптомов	9
2.2. Проведение учётов	9
2.3. Сбор образцов и подготовка к анализу	13
3. Альтернариоидные гифомицеты	14
3.1. Систематика	14
3.2. Морфология	15
3.3. Экология и жизненный цикл	15
4. Идентификация видов <i>Alternaria</i>	16
4.1. Общая информация	16
4.2. Влажная камера	19
4.3. Изоляция в чистую культуру и культивирование	20
4.4. Микроскопия	23
4.5. ПЦР	24
5. Ключ для определения видов <i>Alternaria</i> -возбудителей альтернариозов	28
6. Описание наиболее распространённых видов <i>Alternaria</i>	31
7. Библиография и информационные ресурсы	55
Приложение. Питательные среды	57
Литература	58
Указатель видов и родов грибов	68

Введение

Заболевания различных культурных, дикорастущих и сорных растений, именуемые альтернариозами, известны всем фитопатологам и работникам системы защиты растений. Причиной альтернариозов является поражение растений микроскопическими несовершенными грибами рода *Alternaria*. Виды этого рода встречаются по всему миру. Некоторые из них являются безобидными сапротрофами, другие же, паразитические виды, вызывают вредоносные заболевания сельскохозяйственных культур. В России экономическое значение как патогены растений имеют около 10 видов *Alternaria*. В первую очередь это возбудители альтернариозов картофеля, томатов, капусты, рапса, моркови, подсолнечника а также виды, связанные с заражением семян зерновых культур.

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.

В определённых случаях дополнительной трудностью при мониторинге заболеваний и идентификация патогенов становится то, что с одним видом растений нередко связано несколько видов *Alternaria*, которые могут вызывать схожие симптомы. Несмотря на сходство проявления заболеваний, возбудители могут значительно отличаться по патогенности, токсигенности, степени специализации, генетике взаимоотношений с растением-хозяином, вредоносности, чувствительности к фунгицидам и т.д. То есть разные виды обладают совершенно разными экологическими особенностями и хозяйственной значимостью. В связи с этим очевидна необходимость аккуратной идентификации грибов и дифференцированного подхода при проведении учёта заболеваний (один патоген – одно заболевание).

Настоящее методическое пособие обобщает новейшую информацию по систематике, морфологии, экологии, биологии и ареалам видов *Alternaria*. Приводится информация о способах учёта заболеваний, о современных методах, позволяющих наиболее быстро и достоверно идентифицировать возбудителей альтернариозов. Существенной частью издания является ключ для определения видов *Alternaria* – возбудителей альтернариозов и описания наиболее распространённых в России видов.

1. Общая информация об альтернариозах

1.1 Симптомы

Многие альтернариозы листьев проявляются в виде пятен. Пятна достигают крупных размеров (иногда до 2 см в диаметре), бурые, тёмно-бурые, сероватые, иногда почти чёрные, округлые, реже неправильной формы или угловатые. Для многих альтернариозов листьев характерна концентрическая зональность. На стеблях пятна вытянутые или штриховатые. На плодах и корнеплодах *Alternaria* spp. вызывают гниль, тёмную вдавленную, нередко с тёмно-оливковым или почти чёрным бархатистым налётом спороношения патогена. Такой же налёт можно обнаружить на сильно поражённых отмирающих листьях, стеблях, цветоносах и плодах, однако сапротрофные виды рода *Cladosporium* образуют сходный по виду налёт на отмирающих растениях. Симптомы, сопровождающие заражение определёнными видами *Alternaria*, описаны в главе 6.

Часто грибы рода *Alternaria* инфицируют семена различных растений, в том числе зерно. Ранее было распространено мнение, что чёрный зародыш пшеницы и ячменя вызывается грибами *Cochliobolus sativus*, *Alternaria* spp. и некоторыми другими (Мархасьева, 1957; Жукова, 1985; Southwell et al., 1980). Позже было установлено, что связь между чёрным зародышем и грибной инфекцией отсутствует, а причиной заболевания являются биохимические реакции в зерне (Williamson, 1997; Sulman et al., 1999; Mak et al., 2006), связанные с недостаточным синтезом стрессовых белков (Mak et al., 2006). Инфицирование семян видами *Alternaria* в норме не сопровождается появлением каких-либо симптомов. Таким образом судить о присутствии *Alternaria* spp. в зерне злаков или семенах других растений по каким-либо внешним признакам невозможно.

1.2. Распространение

В России развитие видов *Alternaria* чаще всего отмечаются на 20 культурах (Ганнибал и др., 2010).

Заражение семян зерновых культур (пшеница, ячмень, рожь, овёс) этими грибами встречается повсеместно (Ганнибал, 2008). Род *Alternaria* в микобиоте зерновых представлен видом *A. tenuissima*, комплексом видов '*A. infectoria*' и другими более редкими видами. Суммарная заражённость видами *Alternaria* чаще всего колеблется в пределах 20-50%, но может достигать 90%. Токсигенные виды (в первую очередь, *A. tenuissima*) в большей степени заражают семена зерновых на Дальнем Востоке страны. Виды, инфицирующие семена, являются неспециализированными и нередко присутствуют в семенах растений разных семейств. В норме являясь сапротрофами, при некоторых условиях они способны вызывать болезни листьев и плодов различных растений. К таким заболеваниям, скорее всего, относятся отмечаемые в отдельных регионах альтернариозы яблони, винограда, свёклы, тыквенных (кабачок, огурец), бобовых (вика, горох) и других культур.

Широко известно в России такое заболевание как ранняя пятнистость картофеля и томатов. Альтернариоз картофеля и томатов открытого грунта, вызываемый крупноспоровыми видами *Alternaria* (*A. solani* в широком смысле), встречается в центре и на юге Европейской части, на юге Западной Сибири, на Байкале, но особенно вредоносен на юге Дальнего Востока и Северном Кавказе (Нелен, 1959; Коняева и др., 1980; Ганнибал, 2007а; Еланский и др., 2010; Орина и др., 2010). Несколько шире распространён альтернариоз, вызываемый мелкоспоровыми видами *Alternaria* – *A. tenuissima* и *A. arborescens* (Ганнибал, 2007а; Орина и др., 2010).

Повсеместно распространены альтернариозы крестоцветных культур (капусты, рапса, редьки и др.), вызываемые *A. brassicae*, *A. brassicicola* и *A. japonica* (Ганнибал, Гасич, 2009).

На подсолнечнике альтернариозы и «эмбеллизия» встречаются на юге Европейской части и Дальнего Востока РФ. Возбудителями являются *Alternariaster helianthi* и *Alternaria helianthiinficiens* (Ганнибал и др., 2010; Ганнибал, 2011).

В нескольких регионах страны выявлены альтернариозы листьев и корнеплодов моркови (*A. dauci*, *A. radicina*) (Ганнибал и др., 2010). Распространение альтернариозов в конце вегетации перед уборкой доходит до 90–100%, а развитие до 15%.

Локальное значение имеют альтернариозы лука (*A. porri*), тыквы (*A. cucumerina*) и ряда декоративных растений (календула, цинния).

Более подробно ареалы возбудителей заболеваний даны в главе 6 после описаний видов.

1.3. Вредоносность

Вредоносность альтернариозов проявляется в снижении урожая из-за уменьшения фотосинтетической поверхности листьев, в плесневение плодов и семян и в загрязнении сельскохозяйственной продукции метаболитами гриба, которые могут являться фито-, микотоксинами, аллергенами или ферментами.

Многие виды *Alternaria* вызывают пятнистости листьев и тем самым повреждают фотосинтетический аппарат растения, что при сильном заражении приводит к существенным потерям урожая, особенно ослабленных растений восприимчивых сортов. Подсчитано, что в наиболее драматичных случаях потери урожая плодов томата в Индии достигали 78% (Datar, Mayee, 1981). Исследования, проводившиеся в Германии, показали, что потери урожая семян озимого рапса от альтернариоза могут доходить до 50% (Daebeler et al., 1986). Отмирание ботвы моркови, вызванное альтернариозом, сильно снижает эффективность механизированной уборки корнеплодов (Pryor et al., 1994, 2002).

Плесневение и гниение семян, плодов и корнеплодов – ещё один из типов вреда, причиняемого видами *Alternaria*, который приводит к ухудшению внешнего вида продукции и её выбраковке. Примером заболеваний с таким типом вреда может служить широко распространённая чёрная гниль моркови, которая при сильном распространении в поле и при последующем несоблюдении условий

хранения может превратить весь урожай в некондиционный. Известно также, вызываемое видами *Alternaria*, плесневение плодов томатов (Mislevic et al., 1987), сердцевинная гниль яблок (Serdani et al., 2002) и т.д. Заражение обычно происходит в поле и в дальнейшем поражение развивается при хранении. Распространению инфекции способствует наличие механических повреждений. Развитие, некоторых видов рода на плодах в период хранения может происходить даже при пониженных температурах (Tournas, Stack, 2001).

Очень часто грибы рода *Alternaria* встречаются в семенах растений. Иногда такое заражение не сопровождается появлением каких-либо симптомов и не приводит к снижению количества семян и их качества (масса 1000 семян, всхожесть). В других же случаях ущерб от заражения очень значителен и проявляется в их щуплости семян, низкой жизнеспособности. В период прорастания семян грибок при благоприятных для него условиях может выделять фитотоксины, снижающие всхожесть. Также семенная инфекция иногда приводит к заражению всходов и их гибели. Описано пагубное действие инфицирования семян видами *Alternaria* на проростки крестоцветных культур (Maude, Humpherson-Jones, 1980), льна (Evans et al., 1996), моркови (Coles, Wicks, 2003) и других сельскохозяйственных растений. Некоторыми исследователями отмечено снижение хлебопекарных качеств муки, из-за амилазной и протеолитической активности патогена, находящегося в зерне (Lorenz, 1986; Farohunda, Olajuyigbe, 2006). Под воздействием *Alternaria* снижается масличность семян (Lagopodi, Thanassouloupoulos, 1998; Сердюк, 2006).

Инфицированию семян крестоцветных культур предшествует поражение альтернариозами цветоносов и стручков, что может приводить к снижению урожая семян на 25-80% (Maude, Humpherson-Jones, 1980; Попов, 1993).

В сельскохозяйственной продукции, зараженной видами *Alternaria*, могут накапливаться значительные количества микотоксинов – грибных метаболитов, опасных для человека и животных. Токсичность метаболитов видов *Alternaria* для различных организмов, включая растения, бактерии, птиц и млекопитающих, показана целым рядом исследователей (Stack, Prival, 1986; Visconti, Sibilgia, 1994; Yekeler et al., 2001, и др.). Микотоксины *Alternaria* spp. могут быть тератогенны, токсичны для эмбрионов или способны вызывать гематологические заболевания (Rotem, 1994). Наиболее распространённые микотоксины *Alternaria*, – альтернариол, монометиловый эфир альтернариола, альтенуен, тенуазоновая кислота и альтертоксин I обнаружены в разнообразных сельскохозяйственных продуктах: семена подсолнечника и зерновых культур, яблоки, оливки, томаты, мандарины, перцы и арбузы (Stinson et al., 1981; Logrieco et al., 1988, 1990a, 1990b, 2003; Palmisano et al., 1989; Torres et al., 1993; Webley, Jackson, 1998; Andersen, Frisvad, 2004). Токсины *Alternaria* сохраняются в процессе переработки заражённых плодов и обнаруживаются, например, в томатной пасте, в томатном и яблочном соках (Delgado, Gómez-Cordovés, 1998; Da Motta, Soares, 2001), в красном вине (Scott et al., 2006).

Конидии мелкоспоровых видов *Alternaria* – один из наиболее обильных аллергенов в воздухе на открытых пространствах и в помещениях (Dixit et al., 2000; Fung et al., 2000). В Европе около 3% населения сенсibilизированы к аллергенам *Alternaria* (Bavbek et al., 2006). Споры *Alternaria* являются причиной аллергических реакций, ринитов и тяжёлых обострений бронхиальной астмы, приводящих к смертельным исходам (Neukirch et al., 1999; Fung et al., 2000; Bush, Prochnau, 2004). Наличие определённого белка-антигена Alt a 1 характерно для всех видов *Alternaria* и некоторых представителей других близких родов (*Curvularia*, *Stemphylium*, *Ulocladium* и др.). Кроме токсикозов и аллергии зарегистрированы случаи вызываемых *Alternaria* кожных микозов и кератитов у людей с пониженным иммунным статусом (Robertshaw, Higgins, 2005). Описаны нейрофизиологические заболевания, связанные с проживанием в условиях с высокой концентрацией *A. tenuis* (= *A. alternata*) в окружающей среде (Anyanwu et al., 2005).

2. Мониторинг альтернариозов

2.1. Анализ симптомов

Иногда характерные симптомы в связи с определённым растением-хозяином и местом возделывания культуры свидетельствуют о присутствии конкретного вида *Alternaria*. Такая идентификация по симптомам может быть использована для диагностики ранней пятнистости листьев томата, вызываемой *A. tomatophila* и отличающейся округлыми сероватыми или бурыми пятнами с концентрической зональностью (Simmons, 1992). На томате не известны другие заболевания с такими симптомами, вызываемыми иными патогенами. Однако чаще всего велик риск неверной идентификации видов *Alternaria* в случае диагностики в поле по симптомам. Так, сходные по внешнему виду заболевания листьев моркови вызывают *A. radicina*, *A. dauci*, *Cercospora carotae* и бактерия *Xanthomonas campestris* pv. *carotae*. Альтернариоз подсолнечника на начальных стадиях характеризуется бурыми округлыми или угловатыми пятнами без зональности и схож с проявлениями септориоза и аскохитоза. По этой причине учёт распространения альтернариозов в поле можно проводить только после проведения идентификации возбудителя с помощью микроскопических или иных методов и/или имея информацию о встречаемости патогенов изучаемой культуры в предыдущие годы на исследуемой территории. На наш взгляд, только 5 перечисленных ниже альтернариозов, обладают характерными признаками, которые при наличии у исследователя опыта позволяют с высокой долей вероятности диагностировать их по упрощённой схеме без привлечения микроскопических или молекулярных анализов. К таким заболеваниям можно отнести чёрную гниль корнеплодов моркови (возб. *A. radicina*), альтернариоз листьев томатов (*A. tomatophila*), альтернариоз лука (*A. porri*), альтернариозы стручков рапса (*A. brassicae*) и редьки (*A. japonica*).

2.2. Проведение учётов

Для выявления и учёта альтернариозов сельскохозяйственных культур проводят маршрутные обследования посевов несколько раз за сезон. Необходимое количество проб для адекватной оценки фитосанитарной ситуации зависит от площади посевов, распространённости и равномерности распределения болезни по полю (Степанов, Чумаков, 1972). Для учёта альтернариозов также как и для учёта других листовых пятнистостей обычно достаточно взятия 20 проб по 10 растений в каждой. При величине поля более 50 га, количество проб увеличивают на 2 на каждые 10 га. Пробы берутся по диагонали поля через равномерные промежутки. Более подробно система фитосанитарных наблюдений (организация наблюдений, сроки учётов и формы фиксации результатов) описана С.С.Саниным с соавторами (2002).

Виды *Alternaria* являются некротрофами и сильнее поражают старые ткани растений, поэтому альтернариозы чаще появляются во второй половине периода вегетации. Тем не менее, обследования проводят в течение всей вегетации не менее 3-

4 раз, начиная обычно после появления второй пары настоящих листьев до созревания (Поляков и др., 1995). Перед уборкой целесообразно учитывать только распространение альтернариозов листьев моркови и стручков крестоцветных культур. В посевах рапса, горчицы, масличной редьки, а также на семенниках других крестоцветных проводят дополнительные учёты альтернариоза в начале стручкообразования и незадолго до уборочной спелости (Агейчик и др., 2005).

Учёт альтернариоза (чёрной гнили) моркови проводят при появлении второй пары листьев, после прореживания и перед уборкой. В каждой пробе берут все растения с 0.25 м погонных рядка, но не менее 10 растений (Прищепца и др., 2005). В начале вегетации проводят учёт как для корневой гнили и пятнистости стеблей (см. ниже). Перед уборкой определяют долю больных корнеплодов.

Для учёта альтернариозов применим целый ряд различных шкал, как универсальных, так и разработанных специально для одной болезни. Со многими общеупотребимыми шкалами можно ознакомиться в справочных изданиях (Степанов, Чумаков, 1972; Эльчибаев, 1981; Интегрированные ..., 2005). Для фитосанитарного мониторинга альтернариозов мы рекомендуем использовать стандартную балльную шкалу учёта: 0 – отсутствие поражения; 1 – поражено до 10% поверхности; 2 – от 11 до 25%; 3 – от 25 до 50%; 4 – свыше 50% (Билай, Элланская, 1982). Данная шкала является универсальной для листовых пятнистостей и подходит для работы с альтернариозами листьев. В качестве эталонов заражённости можно использовать эскизы листьев и стручков, поражённых в разной степени, представленные на рис. 1 и 2.

Альтернариоз (чёрную гниль) моркови в начале вегетации учитывают по следующей шкале: 0 – здоровые растения; 1 – на корешке и семядоле заметны чёрные или тёмно-бурые полосы; 2 – начало образования перетяжки корешка; 3 – перетяжка опоясывает более половины корешка; 4 – гибель проростка (Степанов, Чумаков, 1972).

Оценка встречаемости и интенсивности развития альтернариоза на стручках рапса и других крестоцветных культур может проводиться с использованием разнообразных шкал (Babadoost, Gabrielson, 1979; Evans, Gladders, 1981; Humpherson-Jones, 1983; Daebeler, Amelung, 1988; Агейчик и др., 2005). На наш взгляд для этой цели вполне применима шкала, используемая для учёта листовых пятнистостей (см. выше).

Для учёта альтернариозов листьев, стеблей и стручков рапса и горчицы можно использовать и другие методы (Brazauskiene, Petraitiene, 2006). При проведении учёта альтернариозов листьев и стеблей используют по 10 растений из пробы. Для учёта заболеваний стручков используют по 5 растений, проводя осмотр 5 самых нижних стручков с главного стебля. Степень поражения каждого стручка оценивается по шкале Конна с соавторами (Conn et al., 1990): 0, 1, 5, 10, 20, 30 и 50% поражённой поверхности (рис. 2).

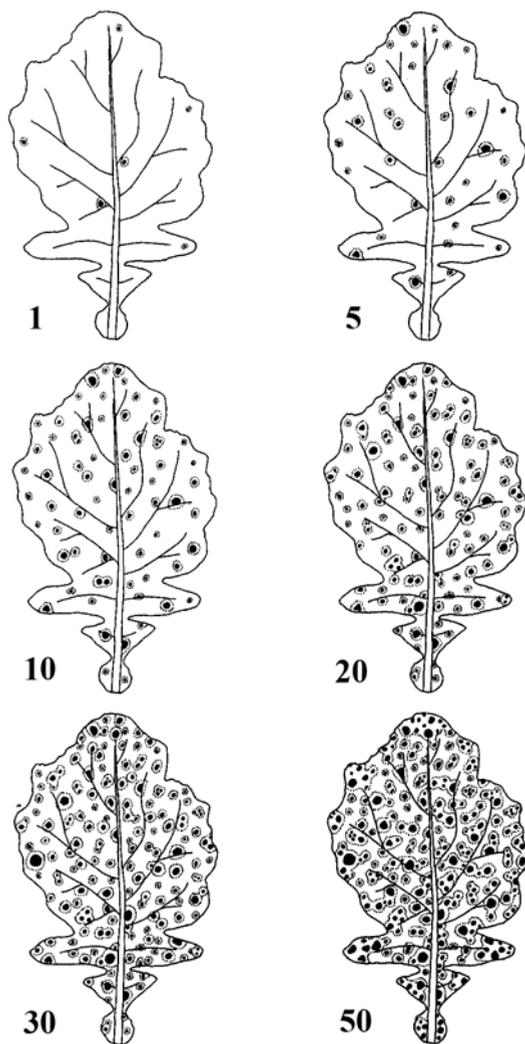


Рис. 1. Листья, поверхность которых покрыта пятнами чёрной пятнистости рапса на 1, 5, 10, 20, 30 и 50%. Пунктирные линии обозначают зоны хлорозов вокруг некротических пятен и также учтены при расчёте поражённой поверхности (Conn et al., 1990).

Учёт поражения чернью колоса следует проводить в фазе созревания зерна (ф. 87) (Санин и др., 2002). В 20 точках осматривают подряд без выбора 10-20 растений, при сильной поражённости (более 10%) – 10, при слабой (менее 10%) – 20

растений. Для определения степени поражения используют ту же шкалу учёта, что и для фузариоза колоса – по проценту поражённой площади поверхности колоса (0, 5, 10, 25, 50 и 75%). Эта же шкала может использоваться в балльной форме (0-5 баллов, соответственно) (Ковалёва, Гагкаева, 2008).

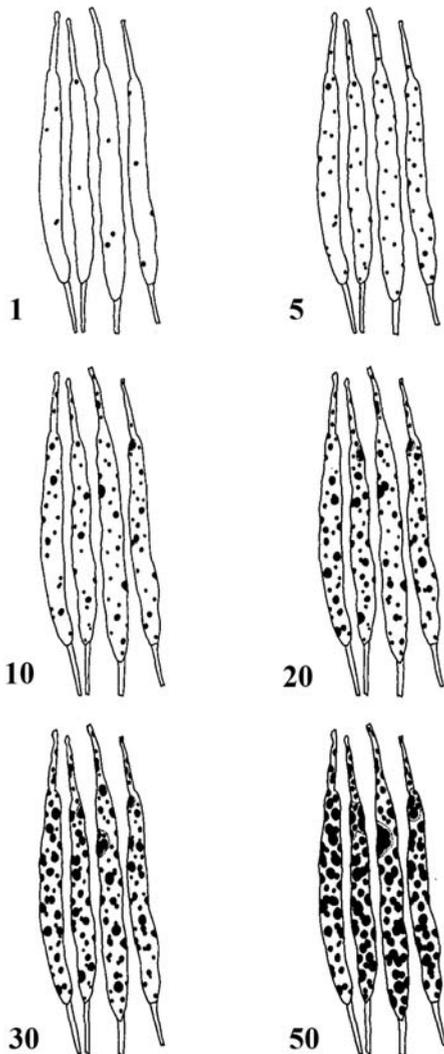


Рис. 2. Стручки, поверхность которых покрыта пятнами чёрной пятнистости рапса на 1, 5, 10, 20, 30 и 50% (Conn et al., 1990).

2.3. Сбор образцов и подготовка к анализу

Альтерналиозы некоторых культур вызываются несколькими видами *Alternaria* и чаще всего по симптомам неотличимы друг от друга и от некоторых других болезней. Поэтому зачастую при проведении мониторинга альтерналиозов необходимо исследование в лаборатории.

Для анализа в лаборатории используют свежий материал, который был собран и доставлен в лабораторию в течение суток и хранился в холодильнике, либо гербарный материал. Для качественного проведения идентификации в заранее собранной пробе должно присутствовать возможно большее количество растений, причём как с начальными симптомами, так и с наиболее развитыми и типичными. Сбор материала проводят по возможности в сухую погоду, в то время, когда растения не покрыты росой. Собранные листья аккуратно расправляют и раскладывают между листов сухой фильтровальной или газетной бумаги.

Для высушивания листы с собранным материалом перемежают пустыми листами (прокладками) и помещают в гербарную сетку (пресс-сетку). По мере необходимости (обычно 1 раз в сутки) прокладки меняют на сухие. Залогом точной идентификации является тщательно и быстро высушенный гербарий. При неправильной сушке гербария на растении успевают развиваться сапротрофные грибы, в том числе некоторые виды *Alternaria* (чаще всего *A. tenuissima*), что в последствии осложняет поиск истинного возбудителя болезни и иногда приводит к неверным заключениям о причине болезни. В гербарии грибы рода *Alternaria* сохраняют жизнеспособность от нескольких месяцев до нескольких лет. Сапротрофные виды в среднем остаются живыми более длительный срок по сравнению с патогенными видами.

Весь собранный материал должен быть аккуратно этикетирован. Этикетка должна содержать подробную информацию о виде, сорте растения, точное место сбора. Желательно описание агротехники (предшественник, удобрение, подготовка почвы, время сева, для семян – время сбора) и характеристика окружающей поле территории (видовой состав культур на соседних полях, обилие травянистой растительности и наличие поблизости гниющих растительных остатков, в том числе выращиваемой культуры).

При анализе семян из каждой партии должны быть отобраны пробы в соответствии с ГОСТ 12036-85 и 24933.0-81. В анализ включают по 200-400 семян в зависимости от вида растения (ГОСТ 12044-93 и 30360-96). Обычно из каждой партии семян отбирают по 2 навески по 50 г крупных семян (типа семян пшеницы и крупнее) или 20 г мелких (просо, капуста и т.п.). Семена каждой навески рассыпают на ровную поверхность, перемешивают и делят на 4 треугольника. Из каждого отсчитывают по 50 семян. Все отобранные семена (400 шт.) объединяют в среднюю пробу (Семёнов и др., 1979).

3. Альтернариоидные гифомицеты

3.1. Систематика

Род *Alternaria*, относимый ранее к несовершенным грибам (пор. *Hyphomycetes*, сем. *Dematiaceae*), в соответствии с принятой в настоящее время системой считают анаморфой сумчатых грибов семейства *Peosporaceae* порядка *Peosporales* подкласса *Peosporogomycetidae* класса *Dothideomycetes* (Kirk et al., 2008). У некоторых видов *Alternaria* известна телеоморфа (половая стадия) из рода *Lewia*, однако подавляющее большинство видов её утратило.

Таксономия рода *Alternaria* Nees и других близких к нему родов за почти что 200 лет претерпела неоднократные капитальные ревизии. В настоящий момент основой систематики рода служат труды Э.Симмонса, опубликовавшего, начиная с 60-х годов, более 30 объёмных статей и определительный ключ (Simmons, 2007). Разграничение видов по Э.Симмонсу строится исключительно на морфологических признаках.

Молекулярные данные показали некоторое несоответствие систематики данной группы грибов её филогении. На филогенетическом древе виды *Alternaria* чередуются с видами других родов. Поэтому в некоторых случаях целесообразнее обсуждать не один род *Alternaria*, а в целом всю группу близких по показателям родства грибов – альтернариоидных гифомицетов. Альтернариоидные гифомицеты включает 10 родов с общим объёмом примерно 350 видов (Gannibal, 2011a): *Alternaria* (около 280 видов), *Alternariaster* (1 вид), *Brachycladium* (2 вида), *Chalastospora* (1 вид), *Embellisia* (23 вида), *Nimbya* (17 видов), *Prathoda* (1 вид), *Teretispora* (1 вид), *Ulocladium* (24 вида), *Undifilum* (2 вида).

Количество всех видовых эпитетов, придуманных когда-либо для *Alternaria*, превышает количество «реальных» видов более чем в два раза. Многие видовые названия были признаны синонимами, а описания ряда видов оказались недостаточно подробными, чтобы по ним можно было идентифицировать вид или сравнить его с близкими видами. Однако некоторые «пустые» видовые названия продолжают появляться в литературе в результате копирования информации без должной критической номенклатурной и таксономической корректировки.

Одной из проблемных с точки зрения систематики является группа так называемых мелкоспоровых видов *Alternaria*. Ранее зачастую всех представителей этой группы объединяли под одним названием – *A. alternata* (син. *A. tenuis*). Ряд попыток описать формы или разделить этот вид на более мелкие виды, незначительно отличающиеся морфологически, но специализированные на разных хозяевах (без надлежащих экспериментальных доказательств) привели к тому, что ныне существует более 100 названий, оцениваемых как мелкоспоровые таксоны с неясными видовыми особенностями, не позволяющими отличить их друг от друга (Simmons, 2007). Приблизительно столько же мелкоспоровых видов в ходе ревизии, проведённой Э.Симмонсом (Simmons, 2007), были признаны диагностируемыми и имеющими легитимные названия. Мелкоспоровые виды по морфологическим и

генетическим признакам могут быть разделены на две большие группы. Около 60 видов по строению цепочек конидий и типу вторичных конидиеносцев сходны с *A. alternata* (далее мы их будем называть комплекс видов '*A. alternata*'), а около 40 – с *A. infectoria* (комплекс видов '*A. infectoria*') (Gannibal, 2011a). Исследование микобиоты растений разных семейств показало, что среди мелкоспоровых видов чаще всего встречается *A. tenuissima*, а *A. alternata* (в узком смысле) является редко встречающимся видом (Pryor, Michailides, 2002; Serdani et al., 2002; Kosiak et al., 2004; Ганнибал, 2008; Орина и др., 2010).

Было предпринято несколько попыток сравнить мелкоспоровые виды *Alternaria* с помощью филогенетических подходов. Несколько таких работ было посвящено поиску границ между морфологически сходными видами *Alternaria*, выделенными из цитрусовых (Peever et al., 2000, 2002, 2004, 2005) и других растений (Andrew et al., 2009). Было подтверждено, что взятые в работу выборки видов делятся на несколько достаточно обособленных филогенетических линий (видов). Однако чёткого соответствия между филогенетическими линиями и морфологически описанными видами не было обнаружено. Молекулярная дифференциация других (не мелкоспоровых) видов в большей степени совпадает с морфологическими, биохимическими и экологическими признаками.

Таким образом, дискуссия о границах видов у *Alternaria* продолжается. Поэтому в ближайшее время очень вероятно появление изменений в системе рода.

3.2. Морфология

В систематике грибов рода *Alternaria* используется ряд традиционных для микромицетов признаков: в первую очередь это размер и форма конидий, в меньшей степени размер и форма конидиеносцев. Кроме того, значение имеет такой комплексный признак как габитус споруляции (three-dimensional sporulation pattern) – общий вид спороношения, учитывающий наличие цепочек спор, их длину, характер ветвления, размер «кустиков» спор и их густоту. На рис. 3 отражены все морфологические структуры, наличие/отсутствие и характеристики которых считаются таксономически важными признаками видов *Alternaria*.

3.3. Экология и жизненный цикл

Виды *Alternaria* – сапротрофы и паразиты с некротрофным типом питания (факультативные паразиты и факультативные сапротрофы). Чаще всего субстратом для развития этих микромицетов становятся листья растений, реже семена и другие надземные органы растений. Сапротрофные виды заселяют отмирающие части растений и растительные остатки на поверхности почвы. Паразитические виды также чаще всего приурочены к физиологически зрелым, стареющим тканям или ослабленным растениям и часто не способны вызвать заражение молодых листьев здоровых растений. Несколько видов *Alternaria* способны сохраняться и развиваться в почве. Не более 6 видов ассоциированы с корнями растений (Rotem, 1994).

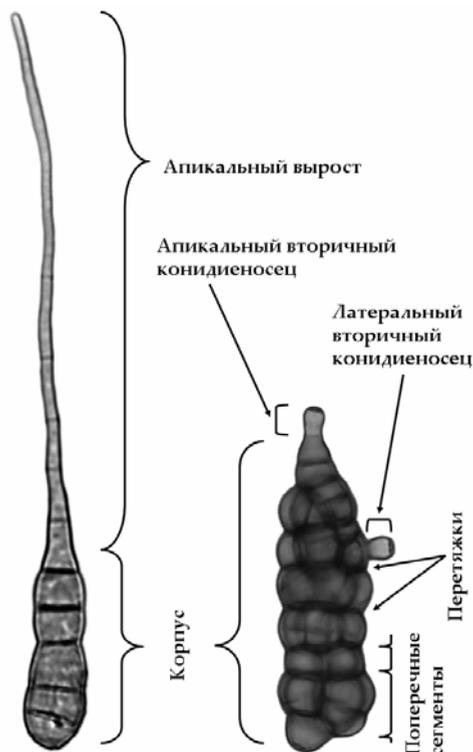


Рис. 3. Морфологические признаки, используемые для систематики и идентификации видов *Alternaria*.

В некоторых случаях было отмечено бессимптомное развитие видов *Alternaria* в живой растительной ткани, напоминающее эндофитизм (Larran et al., 2001, 2007; Serdani et al., 2002). Зарегистрированы случаи вызываемых *Alternaria* кожных микозов и кератитов у людей с пониженным иммунным статусом (Ferrer et al., 2002; Robertshaw, Higgins, 2005).

Известно несколько видов *Alternaria*, синтезирующих специфические к хозяину токсины (ХСТ), благодаря чему они легко заражают восприимчивые растения на любой фазе роста последних. Классическими примерами продуцентов ХСТ являются 7 специализированных форм *A. alternata* (некоторыми исследователями описываются как отдельные виды), *A. brassicae* и некоторые штаммы *A. tenuissima* (Kohmoto et al., 1995). В последние годы ХСТ обнаружены и у других видов рода.

В течение сезонов с неблагоприятными погодными условиями грибы рода *Alternaria* сохраняются мицелием в растительных остатках и семенах. Некоторые виды (например, *A. radicina*) способны сохраняться в почве. Некоторые виды

формируют хламидоспоры и микросклероции. У 14 видов *Alternaria* была обнаружена сумчатая стадия, для созревания которой необходим продолжительный период с низкой положительной температурой.

В течение лета многие виды *Alternaria* способны образовать несколько поколений. Образующиеся на растениях конидии рассеиваются с помощью ветра и брызг дождя или иными способами. По-видимому, анемохорный – является основным способом распространения конидий этих грибов. Конидии *Alternaria* нередко доминируют в приземных слоях атмосферы над пропагулами других видов грибов. Иногда конидии обнаруживают в воздухе и на больших высотах, что свидетельствует о способности к миграции на большие расстояния (тысячи километров) (Rotem, 1994). Показано, что распространению некоторых видов *Alternaria* способствуют насекомые (Dillard et al., 1998).

Виды *Alternaria* в большинстве своём способны развиваться при умеренной температуре, однако наиболее разрушительные эпифитотии альтернариозов возникают почти исключительно при условии жаркой погоды, когда среднесуточная температура превышает 20°C. Также необходимым условием сильного развития альтернариозов является наличие капельной влаги в виде дождей или обильных рос (Rotem, 1994).

4. Идентификация видов *Alternaria*

4.1. Общая информация

Идентификация возбудителей альтернариозов в большинстве случаев начинается с визуального анализа симптомов заболевания. Следующим этапом диагностики является микроскопическое исследование поражённых растений. Алгоритм этих исследований традиционен: просмотр участка поражённой ткани под бинокляром (бинокулярным стереомикроскопом) при небольшом увеличении для выявления спороншения *Alternaria*, которое благодаря относительно крупным тёмноокрашенным конидиям обычно хорошо заметно. Затем препарат конидий просматривают в проходящем свете при большем увеличении. Анализ формы и размера конидий во многих случаях позволяет идентифицировать вид. Но это не касается мелкоспоровых видов, и комплекса '*A. alternata*', и '*A. infectoria*', для определения которых необходимо изучение габитуса споруляции, полученной в стандартизированных условиях в чистой культуре.

Нередко спороншение грибов на поражённых листьях не удаётся обнаружить. Неблагоприятные для патогена погодные условия, главным образом низкая влажность воздуха, отсутствие осадков и рос, удлиняют инкубационный период. В этом случае можно поместить поражённые растения во влажную камеру для стимуляции спороншения, после чего провести микроскопические исследования.

Также из поражённых растений, не имеющих спороншения возбудителя болезни, равно как и из семян, целесообразно провести выделение грибов в чистую культуру. Способы изоляции описаны в п. 4.3. У изолятов, выращенных в стандартных условиях, анализируют культуральные и микроморфологические признаки. Важные для идентификации микроморфологические признаки перечислены ниже в разделе «Микроскопия» (4.4). Такие культуральные признаки, как скорость роста, текстура и цвет колоний имеют второстепенное значение. Они менее информативны и надёжны, чем микроскопические признаки, но в некоторых случаях их можно использовать как дополнительные. Чаще всего виды *Alternaria*, хорошо отличающиеся по культуральным свойствам, ещё более чётко отличаются друг от друга по морфологии конидий.

Определение видовой принадлежности грибов микологическими методами зачастую затруднено небольшим количеством морфологических признаков, доступных для наблюдения, и их значительной внутривидовой вариабельностью. Для успешной идентификации от исследователя требуется аккуратность, наблюдательности и наличие опыта работы с данной группой грибов. Кроме того, выделение грибов в чистую культуру, их культивирование и микроскопические наблюдения требует определённого времени. Поэтому для облегчения идентификации различных микроорганизмов и, в частности, грибов рода *Alternaria* были разработаны альтернативные методы, более эффективные за счёт простоты, скорости и отсутствия высоких требований к квалификации исследователя. К таким

методам можно отнести ПЦР со специфичными праймерами (в том числе количественный ПЦР в реальном времени), секвенирование ДНК, иммуоферментный анализ (ИФА). Для идентификации мелкоспоровых видов, продуцирующих ХСТ, применимы также такие способы, как тестирование изолятов на патогенность и фитотоксичность культуральной жидкости. Для решения таксономических задач использовалось хроматографическое определение метаболитных профилей, однако в виду сложности анализа и ограниченности сферы его применения он для идентификации видов *Alternaria* не используется.

К наиболее распространённым проблемам, приводящим к неверной идентификации и некорректным таксономическим выводам, по мнению Э.Симмонса (Simmons, 1992) относятся следующие:

- Использование полевых образцов. На наш взгляд, эта проблема касается в основном мелкоспоровых видов. При разной влажности и на разных стадиях развития габитус споруляции у этих видов может существенно отличаться. Значительно отличается морфология гриба со свежесобранного материала и материала, помещённого во влажную камеру.

- Присутствие нескольких видов *Alternaria* в одном образце.

- Игнорирование габитуса споруляции как важного признака.

- Не стандартные условия культивирования, в том числе использование нестандартных питательных сред и стимуляция спороношения с помощью облучения ультрафиолетовым светом.

- Заражение культур грибов микопаразитическими грибами и вирусами.

4.2. Влажная камера

Перед помещением во влажную камеру поверхность растительного материала стерилизуют. Материал можно помещать непосредственно на фильтровальную бумагу либо на какие-либо подставки (например, предметные стёкла, предварительно дезинфицированные 70-процентным этанолом). Последнее позволяет уменьшить вероятность быстрого загнивания материала, к примеру, листьев картофеля. Влажные камеры выдерживают при 20-25°C. Анализ спороношения рекомендуется проводить с использованием бинокля раз в сутки до появления обильного спороношения возбудителя болезни. Виды *Alternaria* обычно формируют конидии во влажной камере через 2-5 суток инкубирования. После обнаружения конидий под биноклем, приготавливают микропрепарат, который просматривают под микроскопом.

4.3. Изоляция в чистую культуру и культивирование

Перед изоляцией грибов в чистую культуру проводят стерилизацию поверхности изучаемого образца (семена, фрагменты листьев, корней и т.п.) одним из стандартных методов с применением различных антисептических веществ: 0.1% водный раствор нитрата серебра, 96% этанол, 1% раствор марганцовокислого калия (ГОСТ 12044-93), 1% раствор гипохлорита натрия и т.д. Затем растительный материал раскладывают во влажные камеры или чашки Петри с картофельно-морковным

(КМА) или сенным агаром (НАУ) и инкубируют при комнатной температуре. Для стимуляции спороношения инкубировать следует под лампами дневного света, либо под эритемными лампами (ЛЭ-30, длина волны – 280–380 нм, максимум излучения – 310–320 нм) (целесообразно, если ожидается выделение крупноспоровых видов), либо при естественном освещении. Для культивирования под эритемными лампами используют стеклянные чашки Петри, в остальных случаях рекомендуются пластиковые.

Семена раскладывают в чашки Петри диаметром 9 см по 10 шт. Отрезки листьев в зависимости от их размера раскладывает по 5-10 шт.

Спороношение разных видов *Alternaria* при изоляции описанными выше способами формируется через 3-10 суток. Его появление можно отследить, наблюдая чашки Петри под микроскопом в проходящем (100×) или отражённом (50×) свете. Отсев изолятов удобно осуществлять путём переноса стерильной иглой отдельных конидий (у видов с крупными одиночными конидиями) или нескольких конидий из одной цепочки в чашки Петри с КМА или V-8 (V-4), наблюдая процесс переноса под бинокуляром.

Для получения типичного спороношения грибов рода *Alternaria* и других близких гифомицетов важным является воздействие ряда факторов описанных ниже. Большинство видов альтернариоидных гифомицетов было описано и переописано Э.Симмонсом в его многочисленных статьях и в монографии. В виду этого рекомендации Э.Симмонса (Simmons, 1992, 2007) должны являться основным ориентиром при выборе условий культивирования для проведения корректной идентификации.

Состав питательной среды является наиболее важным моментом в методике идентификации видов *Alternaria*. Чаще всего для получения типичного спороношения используется 2 среды: КМА и V-8 (рецепты приготовления сред см. в приложении). КМА – более бедный по составу субстрат, способствует появлению умеренно обильного спороношения у большинства видов.

Некоторые виды и штаммы *Alternaria*, в первую очередь крупноспоровые (*A. dauci*, *A. porri*, *A. solani*, *A. zinnia* и др.), *A. brassicae* и *A. avenicola* более «капризны» и не всегда формируют спороношение на КМА. Для стимуляции их спороношения стоит использовать среду V-8, которая содержит большее количество углеводов и других питательных веществ. Мелкоспоровые виды также способны споросить на V-8, однако на этой среде они образуют конидиеносцы чрезмерно густо, что затрудняет наблюдения. В качестве альтернативы V-8 мы рекомендуем использовать более доступную среду V-4, отличие состава которой не сказывается существенным образом на спороношении *Alternaria* (Ганнибал, 2007б).

Следует учитывать, что морфология конидий, полученных на КМА и V-4 (V-8) несколько отличается. Морфология крупноспоровых видов, выращенных на КМА и наблюдаемых на естественном субстрате, совпадает в большей степени, чем таковая грибов, культивируемых на средах V-8 и V-4. На V-8 и V-4 корпус конидий более крупный, а апикальные выросты, напротив, короче и реже ветвятся. На этих средах

несколько чаще может происходить появление цепочек спор у крупноспоровых видов.

Среда с отваром сена (сенной агар) может быть использована при изоляции, т.к. колонии в таких условиях обычно формируют обильное спороношение и скудный вегетативный мицелий (Simmons, 1992, 2007).

В спорных случаях, когда идентификация по микроморфологическим признакам затруднена, например, при невозможности разделения видов комплексов '*A. alternata*' и '*A. infectoria*', имеет смысл проводить наблюдение культурально-морфологических свойств. Для культивирования изолятов в этих целях подходят более богатые по составу среды: среда Чапека и картофельно-сахарозный агар. Для видов *Alternaria* была рекомендована среда DRYES при выращивании на которой изоляты характеризуются небольшой скоростью роста, обильным и ярким воздушным мицелием. На среде DRYES изоляты комплекса '*A. alternata*' формируют тёмно-зелёные, зеленовато-серые или тёмно-оливковые колонии, тогда как изоляты комплекса '*A. infectoria*' формируют бесцветные или бледно-окрашенные колонии (Andersen, Thrane, 1996). Для тех же целей возможно использование более простой по составу среды YES (Gannibal, Yli-Mattila, 2005).

Реакция среды. Для нормального роста и спороношения грибов необходимо использование питательной среды с pH 6-7. Кислотность стандартных питательных сред обычно находится в указанном диапазоне, поэтому чаще всего этот параметр не фиксируют. Отклонение pH среды от нормальной может оказывать заметное влияние на культурально-морфологические свойства видов *Alternaria*: на скорость роста, текстуру и цвет колоний.

Температура. Для идентификационных целей подходит температура в пределах 20-25°C. Снижение температуры культивирования может приводить к снижению интенсивности спороношения и образованию более крупных конидий (Misaghi et al., 1978). Более высокая температура также ингибирует спороношение.

Влажность воздуха. Воздействие этого фактора на спороношение *Alternaria* почти не изучено. Влияние влажности обычно не значительное, поэтому этот параметр не учитывают.

Влажность субстрата. Воздействие этого фактора на спороношение *Alternaria* изучено слабо. Влияние влажности считается не значительным, поэтому этот параметр обычно не учитывают, хотя есть данные об увеличении размера конидий при подсушивании питательной среды (Misaghi et al., 1978). Постепенное подсушивание среды стимулирует спороношение некоторых видов, поэтому чаши Петри не герметизируют плёнкой Parafilm или другими средствами..

Освещение. Условия освещения, при которых было описано большинство видов *Alternaria* таковы: пластиковые чашки Петри размещались в один слой на полке, над которой на высоте около 40 см была установлена пара ламп дневного света (флуоресцентные лампы, 34 W). Полки не должны быть теплее окружающего воздуха, т.е., например, под полкой не должно быть ещё одного ряда ламп. Продолжительность фотопериода – 8 ч./сут. (Simmons, 2007).

Нами для идентификации большинства видов *Alternaria*, в первую очередь крупноспорных (*A. dauci*, *A. porri*, *A. solani*, *A. zinnia* и др.), используется культивирование в пластиковых чашках Петри при 24 °С под лампами дневного света (освещённость 900-1000 Лк = 300-400 мВт/м²; 4 лампы Lumilux 18W/865 [Osram, Германия] на расстоянии 15 см над чашками) с продолжительностью фотопериода 12-16 ч./сут.

Некоторые штаммы образуют спороношение только при облучении ближним УФ-светом (эритемные лампы) 12-24 ч в сутки. В этом случае культуры должны находиться в стеклянных чашках Петри. В норме использование УФ не рекомендуется, т.к. образовавшиеся конидии не являются типичными: изменяется форма и усиливается пигментация. В редких случаях спороношение отдельных штаммов и видов может ингибироваться освещением.

Дополнительные способы стимуляции спороношения.

Существует ряд способов индукции спороношения у изолятов, формирующих в обычных условиях исключительно мицелий. Наиболее простой метод – это соскабливание воздушного мицелия с поверхности агаризованной среды и инкубирование чашки Петри ещё несколько дней (Barksdale, 1969). Другим несложным методом является вырезание и перенос агарового блока из колонии, выращенной на относительно богатой по составу среде (например, агар Чапека или V-4) на более бедную среду (КМА) (Bussey, Stevenson, 1991, Chaerani, Voorrips, 2006). Спороношение может появиться как на перенесённом агаровом блоке, так и на вертикальных стенках отверстия, оставленного после вырезания. Можно оставить вырезанный блок в той же чашке Петри, переместив его на незанятую колонией поверхность субстрата (Simmons, 2007).

Также для стимуляции спороношения иногда применяют постепенное подсушивание субстрата (инкубирование в приоткрытых чашках Петри); культивирование на различных специальных питательных средах, в том числе на фильтровальной бумаге, на стерилизованных зерновых субстратах и живом растении-хозяине; добавление в среду большего количества карбоната кальция, если требуется нейтрализация pH; включение в состав среды полиэтиленгликоля для уменьшения активности воды; помещение поверх питательной среды стерильного целлофанового диска.

Некоторые штаммы и виды в процессе культивирования образуют сектора с разным количеством конидиеносцев с конидиями и воздушного мицелия. В целях сохранения способности к спороношению у таких культур целесообразно для последующих пассажей брать инокулюм из секторов с максимально развитым спороношением. Для штаммов *A. solani* и *A. tomatophila*, характеризующихся слабым спороношением, пересевая отдельные конидии без мицелия, через 1-2 пассажа можно добиться увеличения интенсивности спороношения.

4.4. Микроскопия

К наиболее важным микроскопическим признакам относятся следующие: длина и толщина конидии (при наличии длинного апикального выроста, корпус конидии и вырост замеряются отдельно); форма зрелых конидии (у конидий с длинным апикальным выростом описывается форма корпуса конидии); форма молодых конидий; количество поперечных перегородок (в апикальном выросте учитывается отдельно); количество продольных и косых перегородок (по сколько и в каком количестве поперечных сегментов, т.е. сегментов, ограниченных поперечными септами); наличие и выраженность перетяжек возле перегородок; наличие апикального выроста (выростов) и его ветвление; наличие вторичных конидиеносцев, их количество, размер расположение на конидии и количество конидиогенных локусов на них; длина и толщина первичного конидиеносца, его форма (ветвистость и извилистость), количество конидиогенных локусов на нём; цвет конидии; наличие хламидоспор и микросклероциев, их размер и форма. Существенным комплексным признаком является габитус (внешний вид) споруляции, включающий наличие или отсутствие цепочек конидий, характер их ветвления и длину и форму конидий.

Сроки и способы микроскопического анализа грибов рода *Alternaria* определяются особенностями развития разных видов и диагностическими признаками, подлежащими наблюдению. Разные виды и изоляты начинают формировать спороношение в разное время. Обычно это происходит на 2-10 суки роста. В некоторых случаях важным оказывается исследовать характеристики как молодых цепочек конидий, так и уже зрелых. Поэтому колонии просматривают под микроскопом через 2 суток, начиная с 3-дневного возраста. Идентификацию осуществляют, когда изоляты сформировали достаточное количество зрелых конидий, т.е. на 5-9 сутки, но нередко микроскопические исследования приходится продолжать и позже. Сначала анализируют габитус споруляции. При появлении хорошо развитого спороношения изготавливают препараты конидий и проводят их микроскопическое исследование.

Для наблюдения внешнего вида споруляции необходимо поместить чашку Петри с культурой гриба под бинокляр с увеличением порядка 50× либо под микроскоп с увеличением порядка 100×. Оптические свойства пластиковых чашек Петри позволяют просматривать культуры под бинокляром, не открывая их. При приготовлении временных препаратов пользуются традиционными методами (Коваль, Горбик, 1982; Барышкина и др., 2004; Dhingra, Sinclair, 1995). Мицелий и конидии *Alternaria* окрашены, поэтому в использовании каких-либо красителей нет необходимости.

Габитус споруляции мелкоспоровых видов важно зафиксировать на начальных этапах формирования спороношения. Например, *A. tenuissima* на 3-7 сутки роста формирует простые длинные цепочки спор. Однако впоследствии цепочки начинают ветвиться и уже напоминают другие виды (*A. longipes*, *A. alternata* или др.) у которых ветвление цепочек начинается сразу. Кроме того, в старых

культурах спороношение становится обильным, что препятствует различению отдельных цепочек.

Крупноспоровые виды зачастую формируют спороношение не так быстро, как мелкоспоровые, поэтому обнаружить крупные, зрелые конидии обычно можно только через (5-)7-10 дней культивирования или позже.

Первые конидии изолятов разных видов комплекса '*A. infectoria*' появляются через 3-10 суток после начала культивирования. Характерную «скелетообразную» структуру цепочек конидий видов комплекса '*A. infectoria*' удобнее наблюдать у молодых цепочек. Способность изолятов формировать большие «кустики» конидий можно определить через 5-7 дней после начала активного спороношения.

4.4. ПЦР

Основанные на ПЦР методы идентификации разработаны для 5 наиболее распространённых и вредоносных видов и 3 видовых групп *Alternaria*. В целом манипуляции с ДНК *Alternaria* и специфическая амплификация в диагностических целях не отличаются от таковых, применяемых в отношении других грибов. Некоторые особенности существующие при подготовке данных грибов к экстракции ДНК описаны ниже.

Традиционно для выделения небольших количеств ДНК из чистых культур грибов, используют мицелий, полученный выращиванием на агаризованных питательных средах в чашках Петри с последующим соскабливанием скальпелем. Он применим и в отношении грибов рода *Alternaria*. Однако более быстрым и простым методом подготовки мицелия для экстракции ДНК, на наш взгляд, является культивирование изолятов в 1,5-мл центрифужных пластиковых микропробирках с 0.5 мл жидкой питательной среды Чапека или картофельно-сахарозной среды с 1.5% сахарозы. Инокуляцию проводят небольшим кусочком мицелия. Изоляты выращивают 2-3 суток (не более) при 20-25°C. Микропробирки должны быть открыты и разложены в стерильных ёмкостях, например, чашках Петри. Выросший мицелий очищают от питательной среды путём центрифугирования и удаления жидкости. Осадок рекомендуется промыть водой или лизирующим буфером. Затем к осадку добавляют 100 мкл лизирующего буфера и оксид алюминия на кончике скальпеля и тщательно растирают стерильным пестиком либо гомогенизируют мицелий иным методом.

Для экстракции ДНК из мицелия *Alternaria*, полученного в условиях чистой культуры, применяют ряд стандартных методов, разработанных для мицелиальных грибов. Хорошие результаты показывает выделение и очистка ДНК с помощью коммерческих наборов реактивов для мицелиальных грибов. Неплохой выход ДНК и степень чистоты, достаточную для проведения ПЦР, обеспечивают методы, основанные на использовании лизирующих буферов со следующими детергентами: лаурил саркозинат натрия), гексадецилтриметиламмония бромид (СТАВ), додецилсульфат натрия (SDS). При экстракции ДНК из образцов старого мицелия, а также молодого мицелия отдельных видов и штаммов наблюдаются затруднения

при получении качественных препаратов ДНК. В этих случаях помимо стандартных компонентов (детергент, трис-НСl, этилендиаминтетрауксусная кислота [ЭДТА] и хлорид натрия) целесообразно включение в состав лизирующего буфера ферментов (чаще всего используют протеиназу К) и вещества разрушающего дисульфидные связи белков – 2-меркаптоэтанол.

Для депротеинизации в большинстве случаев достаточно однократной обработки хлороформом. При необходимости получения более чистых препаратов ДНК используют двукратную обработку хлороформом или обработку водонасыщенным фенолом, а затем хлороформом. Очистку, осаждение и промывку ДНК проводят стандартными методами.

Более подробно с методами экстракции ДНК, пригодными для выделения ДНК видов *Alternaria* можно ознакомиться в справочных изданиях (Маниатис и др., 1984; Sambrook, Russell, 2001; Ausubel et al., 2002) и других методических работах: метод экстракции ДНК растений со СТАВ – Murray, Thompson, 1980; метод экстракции с SDS – Raeder, Broda, 1985; метод экстракции ДНК мицелиальных грибов с лаурил саркозинатом – Bulat et al., 1998.

Экстракцию ДНК грибов из заражённых тканей растений проводят различными способами. Некоторые из методов можно найти в обзорах (Тютерев, Евстигнеева, 2001; Остроумов и др., 2010). Для выделения грибной ДНК грибов из свежего или высушенного растительного материала подходит буфер, содержащий 1% СТАВ; 1М хлорида натрия; 100 мМ Tris; 20 мМ EDTA; 1% поливинил-полипирролидона (ПВПП), и экстракция с помощью хлороформа или смеси хлороформ: изоамиловый спирт (24:1 об./об.) (Cubero et al., 1999).

Специальные методы были разработаны для выделения ДНК *Alternaria* из семян моркови (Pryor, Gilbertson, 2001), капусты и редьки (Iacomi-Vasilescu, et al., 2001) основанные на способности видов *Alternaria* быстро расти и увеличивать свою биомассу до детектируемых количеств. Эти методы позволяют с высокой степени надёжности выявлять и идентифицировать виды *Alternaria* в семенном материале, однако они не пригодны, когда требуется последующее проведение количественной ПЦР.

Для экстракции ДНК из семян моркови проводят стерилизацию их поверхности (см. п. 4.3). Около 1 г семян (приблизительно 800-1200 шт.) равномерно распределяют по поверхности пластиковой чашки Петри диаметром 100 мм и слегка смачивают стерильной водой из пульверизатора. Чашки инкубируют приоткрытыми, составленными в плотно закрытые пластиковые коробки, на дно которых налита вода. Продолжительность инкубирования 5 суток при 28°C. затем в каждую чашку добавляют по 5 мл лизирующего буфера и инкубируют 15 мин. на ротационном шейкере при 60 об./мин. и 22°C. Содержимое чашек переносят в 15- мл центрифужные пробирки и проводят экстракцию смесью фенола с хлороформом (1:1), а затем хлороформом. Около 3 мл полученной водной фазы смешивают с 0.5 мл 10% раствора ПВПП, инкубируют на шейкере 5 мин. и

Таблица 1. Праймеры, используемые для идентификации видов рода *Alternaria* с помощью ПЦР

Праймер	Последовательность (5' → 3')	Специфичность	Размер целевого ампликона, пн	Условия отжига праймеров*
AAF2 AAR3 ^a	TGCAATCAGCGTCAGTAACAAAT ATGGATGCTAGACSTTTGCTGAT	<i>A. alternata</i> **	340	70°C, 30 с
Ain3F Ain4R ^b	CTCGATGTCCGCCTCAGTAG GAGGATAGCACGGCTGGTAG	комплекс видов ' <i>A. infectoria</i> '	327	60°C, 40 с
ALP ITS4 ^b	GGCACCTCCCGGGGTGGC TCCTCCGCTTATTGATATGC	<i>A. linicola</i> и другие крупноспорные виды	535	62°C, 40 с
LinF1 LinR ^c	TATCGCCTGGCCACCTACGC TGGCCACGACAACCCACATA	Патогенные для яблони виды <i>Alternaria</i> с геном АМ-токсина	496	65°C, 30 с
ABCsens ABCrev ^d	CTGGTGAAAAGGTTGCGATCGT GTGACTTTCATGAAATGACATTGATG	<i>A. brassicae</i>	780	60°C, 50 с
ABRE1 ABRE3 ^e	AAGGCGAGTCTCCAGCAAACATA TGAAATCTCTCGAGACGACG	<i>A. brassicae</i>	366	60°C, 40 с
ABRA1 ABRA2 ^e	AAGGCGAGTCTCCAGCAAACCTG ACTCACCTCAGCAGCATCTGCTGT	<i>A. brassicicola</i>	377	55°C, 50 с
ADF2 ADR1 ^a	GCAATCAGCGTCAGTAACAACA CGCAAGGGGAGACAAAAA	<i>A. dauci</i>	345	70°C, 30 с
Pa2071 Pa2072*	GGGCGTTATGCGAGATCAGG GTATTTGTAGGAATTTCCAG	<i>A. radicina</i>	900	60°C, 90 с
ARF2 ARR3 ^a	AATCAGCGTCAGTAAACAAACG AGAGGCTTTGTGGATGCTG	<i>A. radicina</i>	251	70°C, 30 с
AJAP1 AJAP2 ^e	TTGTGGATGCTGACSTTTGCTGG CTAGCAGTGCATTGCTTTACGG	<i>A. japonica</i>	467	60°C, 50 с

* Продолжительность стадий может быть оптимизирована эмпирическим путём для работы на конкретной модели термоциклера.

** Данные праймеры амплифицируют также ДНК некоторых других видов комплекса '*A. alternata*' (Gannibal, Yli-Mattila, 2005).

^aKonstantinova et al., 2002

^bGannibal, Yli-Mattila, 2007

^bMcKay et al., 1999

^cJohnson et al., 2000

^dGuillemette et al., 2004

^eIacomi-Vasilescu et al., 2001

*Pryor, Gilbertson, 2001

центрифугируют (12000×g, 10 мин., 4°C). ДНК, находящуюся в надосадочной жидкости, подвергают осаждению и очистке с помощью коммерческих наборов реактивов.

Для экстракции ДНК из крестоцветных культур по 20 предварительно поверхностно стерилизованных семян помещают в стерильную 2-мл центрифужную микропробирку и заливают 0.4 мл жидкой питательной среды, например MDP (2% солодового экстракта, 2% декстрозы, 0.1% пептона), и инкубируют при 25°C в течение 48 ч, иногда потряхивая. Перед экстрагированием пробирки встряхивают на вортексе после чего семена удаляют. Экстракцию проводят, используя буфер с 3% SDS и 1% 2-меркаптоэтанола.

Аннотированный перечень специфичных праймеров, используемых для детекции и идентификации видов рода *Alternaria*, приведён в таблице 1.

Для идентификации и количественного определения содержания *A. brassicae* в семенах капусты и других крестоцветных культур был опробован метод ПЦР в реальном времени (Guillemette et al., 2004). Для этой цели были разработаны специальные видоспецифичные праймеры 115sens (5'-AACCCATAGACCCACGTCGACTA-3') и 115rev (5'-GATGGTACGCAAGGCTTGGT-3'). Для детекции ампликонов использовали краситель SYBR Green. Данный метод определения *A. brassicae* показал удовлетворительную чувствительность и эффективность, однако пока не получил широкого применения, вероятно, из-за высокой стоимости анализа.

5. Ключ для определения видов *Alternaria*-возбудителей альтернариозов

Ниже мы приводим ключ для определения встречающихся на территории России видов *Alternaria*. В ключ вошло несколько наиболее распространённых сапротрофных видов и виды, вызывающие серьёзные заболевания сельскохозяйственных культур, в том числе декоративных и лекарственных. Ключ составлен с учётом морфологических параметров, наблюдаемых при культивировании грибов на питательных средах КМА и V-4 (для крупноспоровых видов) при освещении лампами дневного света. Подробные иллюстрированные описания всех представленных в данном разделе видов приведены в главе 6.

1. Конидии мелкие, 20–60 × 6–15 мкм, редко более длинные за счёт вторичного конидиеносца – 2.

- Конидии более длинные или толстые. Длина зрелых конидий обычно превышает 60 мкм и чаще всего составляет 100–300 мкм, в том числе длина корпуса без учёта выростов составляет 50–130 мкм; толщина конидий 12–35 мкм. Если конидии короткие (до 60 мкм), то толстые (15–25 мкм) – 6.

2. Конидии яйцевидные, цилиндрические или обратнобулавовидные средне- или тёмно-коричневые на вершине с коротким светло-коричневым вторичным конидиеносцем, длина которого обычно равна 5–10 мкм (изредка до 35 мкм); конидии формируют простые или ветвящиеся обычно длинные цепочки (6–12 конидий в ряд) – 3.

- Конидии эллиптические, яйцевидные или булавовидные средне- или светло-коричневые; у 5–30 % конидий вторичный конидиеносец длинный и достигает 20–60(100) мкм; конидии формируют ветвящиеся цепочки разной длины, напоминающие кустики – **комплекс видов 'A. infectoria'**.

3. Конидиеносцы до 200–300 мкм длиной, нередко с 1–3 боковыми ответвлениями. Цепочки конидий ветвятся и достигают длины 4–8 конидий в ряд – *A. arborescens* (комплекс видов '*A. alternata*').

- Конидиеносцы недлинные, 10–100 мкм, обычно не ветвятся – 4.

4. Изолят выделен из растения рода Brassica (капуста, рапс и др.) или другого растения семейства крестоцветных. Конидии цилиндрические или обратнобулавовидные 10–70 × 6–17 мкм. Вторичные конидиеносцы обычно очень короткие, до 5 мкм длиной – *A. brassicicola*.

- Конидии яйцевидные или обратнобулавовидные, обычно с более или менее вытянутым вторичным конидиеносцем – 5.

5. Конидии формируют простые длинные цепочки (до 8–12 и более конидий), которые после 5–7 дней культивирования начинают ветвиться за счёт появления латеральных вторичных конидиеносцев – *A. tenuissima* (комплекс видов '*A. alternata*').

- Конидии образуются в ветвистых цепочках (4–8 конидий в ряд). Вторичные конидиеносцы апикальные и латеральные, имеют 1 или несколько конидиогенных локусов – *A. alternata* (комплекс видов '*A. alternata*').

6. Конидии в коротких (2-3 в ряд), но густо ветвящихся цепочках, эллипсоидальные или обратобулавовидные 70-100 × 12-22 мкм, нередко с длинными боковыми вторичными конидиеносцами – *A. avenicola*.

- Признаки иные – 7.

7. Изолят выделен из растения семейства крестоцветные – 8.

- Изолят выделен из растения семейства паслёновые – 9.

-- Изолят выделен из растения семейства сложноцветные – 10.

--- Изолят выделен из растения другого семейства – 13.

8. Изолят выделен из растения рода *Raphanus* (редька, редис, дайкон) или другого растения. Конидии более или менее овальные, у перегородок сильно перетянутые, апикальные вторичные конидиеносцы до 60 мкм длиной – *A. japonica*.

- Изолят выделен из растения рода *Brassica* (капуста, рапс, турнепс, горчица сарептская и др.) или другого растения. Конидии обратобулавовидные до 150-200(250) × 20-35(40) мкм, включая апикальный вырост или вторичный конидиеносец – *A. brassicae*.

-- Изолят выделен из растения рода *Brassica* (капуста, рапс и др.) или другого растения. Конидии цилиндрические или булавовидные 10-70 × 6-17 мкм. Вторичные конидиеносцы есть у большинства конидий, обычно до 5 мкм длиной – *A. brassicicola*.

9. Изолят выделен из картофеля или томата. На V-4 корпус конидии эллипсоидальный или узкоовальный до 109-115 × 18-26 мкм; апикальных выростов 1-2(3), 60-118 мкм длиной – *A. solani*.

- Изолят выделен из томата. На V-4 корпус конидии узкоовальный до 80-117 × 16-23 мкм; апикальный выростов 1-3(4), 60-217 мкм длиной. – *A. tomatophila*.

10. Изолят выделен из подсолнечника – 11.

- Растение-хозяин иное – 12.

11. Форма конидий близка к цилиндрической, нитевидный апикальный вырост отсутствует; конидии до 80–130(160) × 18–23(30) мкм, продольных перегородок 0–2 – *Alternariaster (Alternaria) helianthi*.

- Конидии яйцевидные или эллиптические без апикального выроста либо более или менее обратобулавовидные с длинным неветвящимся выростом, достигающим в длину 150 мкм и более – *Alternaria helianthiinficiens*.

12. Изолят выделен из листьев календулы. На V-4 корпус конидии широкоовальный до 65-105 × 20-26 мкм; апикальный вырост до 160 мкм длиной – *A. calendulae*.

- Изолят выделен из листьев циннии. На V-4 корпус конидии длинноовальный или эллипсоидальный до 65-80(100) × 19-25(27) мкм; апикальный вырост до 150 мкм длиной – *A. zinniae*.

13. Изолят выделен из растения семейства зонтичные: моркови или другого растения – 14.

- Изолят выделен из растения другого семейства – 15.

14. – Изолят получен из надземных органов растения. На V-4 корпус конидии широкоовальный до 65-115 × 15-22 мкм; апикальный вырост до 200-275 мкм длиной – *A. dauci*.

- Изолят получен из корней, листьев или семян. Конидии яйцевидные или широко эллипсоидальные, 42-63 × 15-25 мкм, обычно без апикального выроста – *A. radicina*.

15. Изолят выделен из тыквы или другого растения семейства тыквенные. На V-4 корпус конидии широкоовальный до 75-110 × 17-25 мкм; апикальный вырост до 160 (изредка до 300) мкм длиной – *A. cucumerina*.

- Изолят выделен из растения рода *Allium* (лук, чеснок). На V-4 корпус конидии вытянутоэллипсоидальный до 70-105 × 19-24 мкм; апикальный вырост до 160 мкм длиной – *A. porri*.

6. Описание наиболее распространённых видов *Alternaria*

Мелкоспоровые виды

Комплекс видов '*A. alternata*'

Группа включает около 60 морфологически сходных видов, многие из которых трудноотличимы друг от друга.

Колонии на быстрорастущие серые, зеленоватые, тёмно-серые, тёмно-оливковые, чёрные, почти без воздушного мицелия (на КМА) или с умеренным воздушным мицелием (на V-4), почти всегда с интенсивным спороношением.

Конидий чаще всего в длинных простых или ветвящихся цепочках. Конидии мелкие обратнубулавовидные, яйцевидные или узко-эллипсоидальные, серо-коричневые или оливково-коричневые, в культуре 20-50(60) × 8-12 мкм, на естественном субстрате немного крупнее. Поперечных перегородок 3-7(11), продольные – по 1-2 в 1 или нескольких поперечных сегментах. Вторичные конидиеносцы короткие апикальные (обычно не более 5-10 мкм длиной, изредка до 35 мкм), иногда латеральные; Отличаются друг от друга разные виды габитусом споруляции, размером и формой конидий (рис. 4-6).

Виды комплекса '*A. alternata*' распространены по всему миру и встречаются с очень высокой частотой, в том числе на всей территории России. Наиболее часто упоминаемым литературе, особенно старой, является понимаемый очень широко вид *A. alternata* (Fr.) Keissl. (син. *A. tenuis* Nees). Нередко исследователи в понятие «*A. alternata*» включают все мелкоспоровые виды, в т.ч. некоторые виды комплекса '*A. infectoria*'. Если следовать представлениям Э. Симмонса (Simmons, 2007) о разграничении мелкоспоровых видов, то наиболее распространенным в мире оказывается вид *A. tenuissima* (Nees et T. Nees : Fr.) Wiltshire. Несколько реже встречаются *A. alternata* (в узком смысле) и *A. arborescens* E.G. Simmons. Границы между этими видами в настоящее время проведены по морфологическим признакам. Исследование молекулярной филогении этой группы в будущем может значительно изменить систематику мелкоспоровых видов *Alternaria*. Результаты молекулярно-филогенетических исследований свидетельствуют скорее о необходимости объединения некоторых видов, нежели о существовании видов-двойников.

Распространены повсеместно, встречаются очень часто. Большинство видов комплекса '*A. alternata*' токсигенны, т.е. способны синтезировать микотоксины, и загрязнять ими сельскохозяйственную продукцию, делая её опасной для человека и животных. Эти грибы существуют в природе преимущественно как сапротрофы, часто бессимптомно присутствуют в семенах растений, в т.ч. в зерне. Однако известен ряд случаев, когда они вызывали сильные массовые заболевания различных растений, в т.ч. пшеницы, подсолнечника и др. Вероятно, такие заболевания связаны с определённым сочетанием погодных, эдафических и агротехнических факторов, снижающих иммунитет растений и благоприятствующих развитию патогенов. Ущерб от таких эпифитотий может быть значительным. Например, потери урожая

семян от листовой пятнистости подсолнечника колебались в пределах 15-79% (Lagopodi, Thanassouloupoulos, 1998).

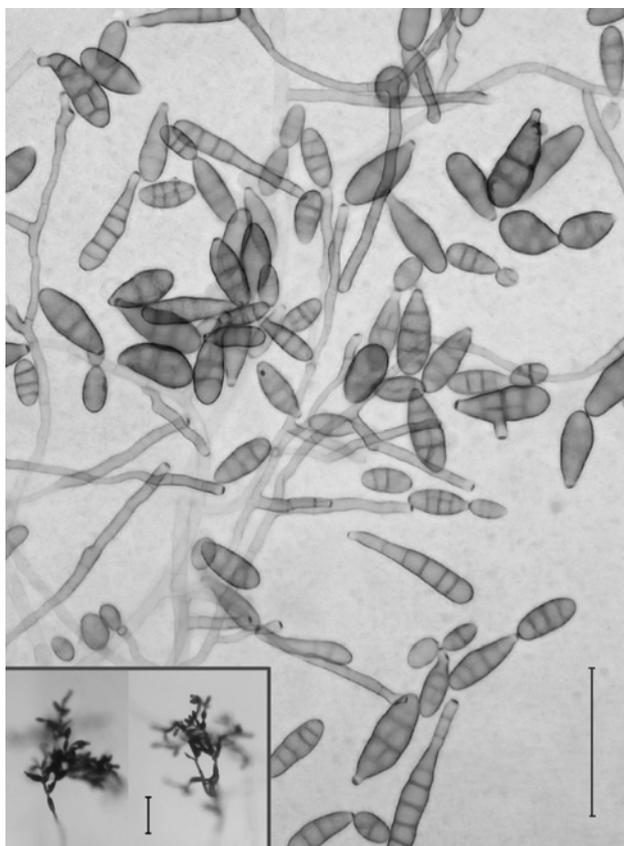


Рис. 4. *Alternaria alternata*: габитус споруляции (внизу слева), конидии и конидиеносцы на КМА. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

Комплекс видов '*A. infectoria*'

Комплекс включает около 40 филогенетически близких видов, многие из которых трудноотличимы друг от друга. В том числе в комплекс включают *A. infectoria* E.G.Simmons и *A. triticina* Prasada et Prabhu. Для 9 видов известно несколько случаев обнаружения в природе телеоморф из рода *Lewia*.

На КМА и V-4 колонии с умеренно развитым воздушным мицелием, бесцветные, бледно-коричневые или при интенсивном спороношении серые. На более богатых средах воздушный мицелий плотный бесцветный, желтоватый, розоватый, реже светло-серый. Спороношение начинает появляться обычно в центре колонии лишь на 5-10 сутки.



Рис. 5. *Alternaria arborescens*: конидии и конидиеносцы на КМА. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

Габитус споруляции у этой группы видов сильно варьирует между изолятами. Цепочки конидий разветвлённые, короткие или длинные, могут содержать небольшое количество спор или представлять собой густо разветвлённые плотные или раскидистые «кустики», состоящие из многих десятков (до нескольких сотен) конидий. Конидии от бледно-жёлто-коричневых до светло-коричневых, обратнобулавовидные, яйцевидные или цилиндрические, 30-60 × 6-15 мкм. Толщина спор некоторых видов достигает 25 мкм. Конидии, находящиеся в верхней части цепочек, могут оставаться мелкими (12-30 × 5-10 мкм). Поперечных перегородок 4-7(10), продольных – по 1-2(3) в 1-4 поперечных сегментах (рис. 7). У большинства видов ветвление цепочек происходит за счёт появления на апикальных вторичных конидиеносцах нескольких конидиогенных локусов. Для нескольких видов характерны боковые вторичные конидиеносцы. Характерным почти для всех видов комплекса является то, что у некоторой части конидий (5-30%) вторичные конидиеносцы длинные (10-60 мкм и более) коленчатые с 2-3(8) конидиогенными локусами.



Рис. 6. *Alternaria tenuissima*: габитус споруляции (вверху слева), конидии и конидиеносцы на КМА. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

Виды комплекса '*A. infectoria*' обнаружены на различных растительных субстратах, преимущественно в семенах и на листьях на всех континентах, во многих странах. Они распространены в Северной Европе (Andersen, Thrane, 1996; Andersen et al., 1996; Kosiak et al., 2004), встречаются в США (Simmons, 1994; Dugan, Lupien, 2002; Pryor, Michailides, 2002) и Австралии (Webley, Jackson, 1998) и Южной Африке (Serdani et al., 2002). Часто встречаются в Европейской части РФ, редко – в Сибири и почти не встречаются на Дальнем Востоке страны (Ганнибал, 2008; Ганнибал, Гасич, 2009). Обильнее всего виды комплекса '*A. infectoria*' представлены в семенах зерновых и других культур, где они развиваются бессимптомно, на юге Европейской части России и в Калининградской области.

Для большинства видов комплекса '*A. infectoria*' характерно полное или почти полное отсутствие токсигенности и низкая патогенность. У некоторых представителей комплекса '*A. infectoria*' обнаружен ряд метаболитов, являющихся структурными аналогами микотоксинов, продуцируемых другими грибами, однако токсические свойства этих веществ пока не исследованы.

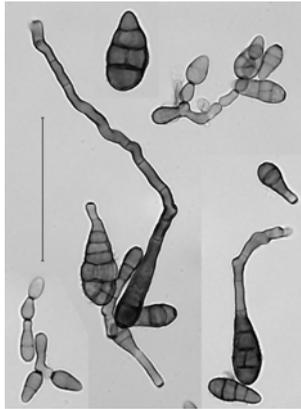


Рис. 7. *Alternaria infectoria*: конидии на КМА. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

Виды со средними и крупными конидиями

A. avenicola E. G. Simmons, Kosiak et Kwaśna 2007

Телеоморфа – *Lewia avenicola* Kosiak et Kwaśna 2003.

Колонии быстрорастущие, на КМА бледно-серые по краю коричневатые со скудным воздушным мицелием, часто стерильные. На V-4 колонии с более развитым мицелием, серые, коричнегато-серые. Для получения интенсивного спороношения необходимо освещение или повреждение поверхности колонии.

Молодые цепочки состоят из 2-3 конидий. В 10-14-дневных культурах спороношение принимает вид плотных пучков или кустиков, состоящих из 10 и более конидий, благодаря тому, что базальная конидия формирует 2-4(10) длинных (до 25 мкм) латеральных вторичных конидиеносцев, на каждом из которых образуется отдельная короткая цепочка. На V-4 корпус зрелых конидий достигает размера 70-100 × 12-22 мкм, узко-эллипсоидальный, широко-эллипсоидальный до широко-овального. Поперечных перегородок до 11-15, продольных по 1-3(4) в большинстве центральных поперечных сегментах. Апикальные вторичные конидиеносцы 5-25 мкм длиной, обычно с 1(2) конидиогенным локусом. Конидии светло-желтовато-коричневые (рис. 8).

Типовой штамм *A. avenicola* выделен из семян овса из Норвегии (Kwaśna, Kosiak, 2003). В России этот вид был обнаружен нами на листьях, плодах и в семенах растений разных семейств во многих областях Европейской части России и некоторых областях Урала и Западной Сибири (Ганнибал, 2007а, 2008; Ганнибал, Гасич, 2009). Встречается с низкой частотой. Например, около 13 % проанализированных нами образцов зерна (пшеница, ячмень и овёс) 2006 года урожая из Европейской части страны были инфицированы данным видом, заражённость при этом не превышала 6 %.

Вероятно, *A. avenicola* является сапротрофом, токсигенные свойства вида не изучены.

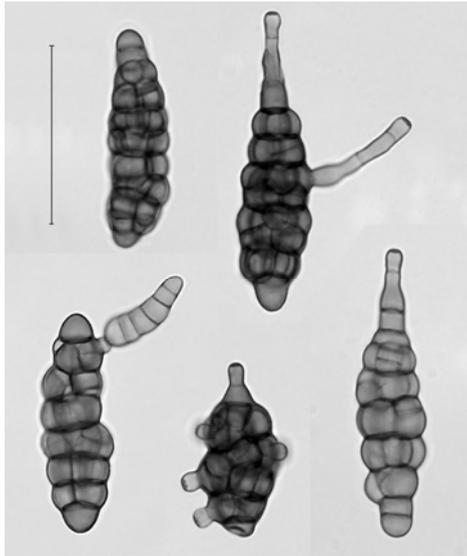


Рис. 8. *Alternaria avenicola*: конидии на V-4. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

A. brassicae (Berk.) Sacc. 1880

≡ *Macrosporium brassicae* Berk. 1836

= *Puccinia brassicae* Montagne 1836

= *Sporidesmium exitiosum* Kühn 1855

= *Polydesmus exitiosus* (Kühn) Rabenhorst 1855

= *Rhopalidium brassicae* (Mont.) Mont. et Fr. 1856

= *Cercospora bloxami* Berkeley et Broome 1882

= *Macrosporium herculeum* Ellis et G. Martin 1882

= *Cercospora lepidii* Peck 1884

= *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. var. *macrospora* Sacc. 1886

= *Sporodesmium onnii* Karsten 1891

= *Macrosporium brassicae* Berk. var. *macrospora* Eliasson 1897

= *Sporodesmium brassicae* Masee 1901

= *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. var. *exitiosa* (Kühn) Ferraris 1912

= *Alternaria herculea* (Ellis et G. Martin) Elliott 1917

= *Alternaria macrospora* (Sacc.) Sawada 1931

= *Alternaria alliariae-officinalis* Săvul. et Sandu, in Săvulescu 1932

= *Alternaria exitiosa* (Kühn) Jørstad 1945

= *Cercospora moldavica* Săvul. et Bontea, in Săvulescu 1947

= *Macrosporium macrosporum* (Eliasson) Sawada 1958

= *Alternaria saccardoi* Sawada 1959

? *Alternaria brassicae* (Berk.) Bolle 1924

На КМА и V-4 рост умеренный, спороношение обильное или умеренное; некоторые изоляты в культуре быстро теряют способность к спороношению. Спороносящие колонии тёмных оттенков (серые на КМА, зелёно-оливковые на V-4), неспороносящие – светлых.

Конидии бледно-жёлтые одиночные, в культуре нередко в цепочках по 2, обратнобулавовидные до $150-200(250) \times 20-35(40)$ мкм, включая апикальный вырост, с 10-12 поперечными и 1-2 продольными перегородками в 1-5 поперечных сегментах. Апикальный вырост достигает 50-80 мкм, вторичный конидиеносец – 20-100 мкм (рис. 9).

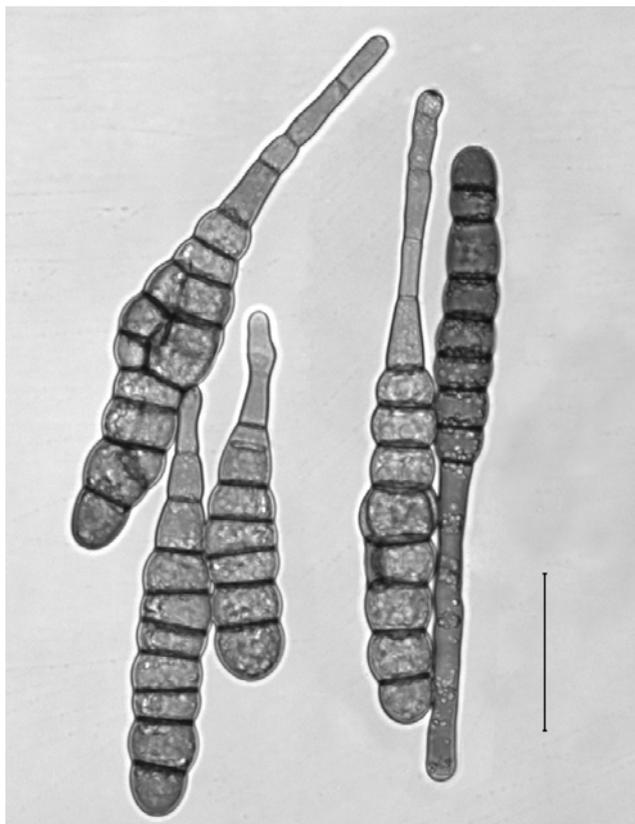


Рис. 9. *Alternaria brassicae*: конидии на КМА. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

Космополит. В России встречается нередко почти на всей территории возделывания капусты. Чаще всего является возбудителем серой пятнистости (альтернариоза) листьев и других надземных частей большинства разновидностей капусты (*Brassica oleraceae*) и других видов рода *Brassica*: рапса, горчицы сарептской

и турнепса. Известны факты обнаружения *A. brassicae* на многих других растениях семейства крестоцветные, в том числе на культивируемых: хрен, редька, дайкон, горчица, катран (Ганнибал, Гасич, 2009). На стеблях и стручках пятна тёмно-коричневые или почти чёрные, округлые или штриховатые, до 5 мм в диаметре. На листьях пятна светло-коричневые, тёмно-коричневые, сероватые, округлые, обычно до 12 мм в диаметре. Альтернариоз листьев и стручков капусты и рапса зачастую характеризуется высоким распространением, но низким развитием (Гасич, 2003, Ганнибал и др., 2010). Заболевание может приводить к потере до 25% урожая семян и снижению их всхожести на 35% (Попов, 1993).

Для предупреждения путаницы и удобства мы предлагаем для обозначения заболевания, вызываемого *A. brassicae*, использовать информативный термин – серый альтернариоз.

***A. brassicicola* (Schwein.) Wiltshire 1947**

≡ *Helminthosporium brassicicola* Schwein. [в оригинале '*brassicola*'] 1832

= *Macrosporium cheiranthi* Fr. var. *circinans* Berk. et M.A. Curtis, 1875

= *Alternaria circinans* (Berk. et M.A. Curtis) Bolle 1924

= *Alternaria oleracea* Milbraith 1922

= *Sporidesmium exitiosum* f. *alternarioides* J.G. Kühn 1855

= *Polydesmus exitiosus* f. *alternarioides* (J.G. Kühn) J.G. Kühn 1858

= *Helminthosporium brassicae* Henn. 1902

= *Macrosporium circinans* Berk. et M.A. Curtis 1876

= *Macrosporium commune* var. *circinans* (Berk. et M.A. Curtis) Sacc. 1886

= *Sporidesmium exitiosum* f. *luxuriosum* J.G. Kühn 1855

= *Polydesmus exitiosus* f. *luxuriosum* (J.G. Kühn) J.G. Kühn 1858

= *Alternaria brassicae* var. *minor* Sacc. 1880

На КМА и V-4 скорость роста умеренная, спороношение обильное; колонии тёмных оттенков (коричневато-чёрные, тёмно-оливково-серые).

Конидии в длинных ветвящихся цепочках, цилиндрические, реже обратнобулавовидные, желтоватые до коричневых. Одна или несколько нижних спор более крупные, до 50-70 × 12-17 мкм с 6-7 поперечными и 1 (2) продольной перегородкой в 0-4 поперечных сегментах. Большая часть конидий более мелкие, 10-25 × 6-10 мкм с 1-3 поперечными перегородками и без продольных. Апикальные и латеральные вторичные конидиеносцы обычно представлены одной мелкой почти квадратной или коротко цилиндрической клеткой (рис. 10).

Считается космополитом, преобладает в районах с тёплым климатом. В России часто встречается на Кавказе и на юге Дальнего Востока. Обнаружен на листьях, реже стеблях и стручках видов родов *Brassica* (многие разновидности капусты, рапс), иногда на хрене, редисе и других крестоцветных (Ганнибал, Гасич, 2009).

Вызывает эпифитотии чёрной пятнистости (альтернариоза) листьев капусты и рапса. Мы предлагаем называть это заболевание чёрным альтернариозом. На

листьях капусты пятна тёмно-серые, серо-коричневые, тёмно-коричневые, почти чёрные, после появления спороношения гриба – оливково-чёрные, округлые с зональностью, до 20 мм в диаметре. В Европе потери урожая семян капусты от чёрного альтернариоза в отдельные годы достигали 80% (Maude, Humpherson-Jones, 1980), озимого рапса – до 50% (Daebeler et al., 1986). Семенная инфекция иногда приводит к заражению всходов и их гибели (Maude, Humpherson-Jones, 1980).

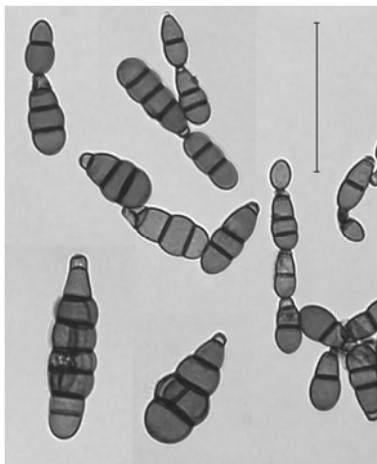


Рис. 10. *Alternaria brassicicola*: конидии на КМА. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

A. calendulae Ondřej 1974

= *Macrosporium calendulae* Nelen 1959

~ *Alternaria calendulae* Yamamoto 1934

~ *Alternaria calendulae* Nirenberg 1977

Колонии относительно быстрорастущие, серые, зеленовато-серые. Массовое спороношение наблюдается на среде V-4.

Конидии одиночные, очень редко в цепочках по две, умеренно-желтовато-коричневые. Тело зрелых конидий широкоовальное, до 65-105 × 20-26 мкм с 9-11 поперечными перегородками и 1(2) продольными в 1-4 поперечных сегментах. Апикальный вырост простой, реже разветвлённый (двойной), до 140-160 мкм длиной (рис. 11). На КМА и естественном субстрате апикальный вырост длиннее.

Обнаружен в ряде стран Европы, в Южной Корее, Непале, США (Ondřej, 1996; Yu, 2001) и, вероятно, в Японии (Simmons, 2007). Встречается на листьях календулы, часто в Приморском крае, есть единичные находки на Северо-Западе, в ЦЧП, на Урале и в Прибайкалье (Нелен, Васильева, 1959; Нелен, 1961, 1972; Егорова, Павлюк, 2006; Ondrej, 1996; Ганнибал, неопубл.).

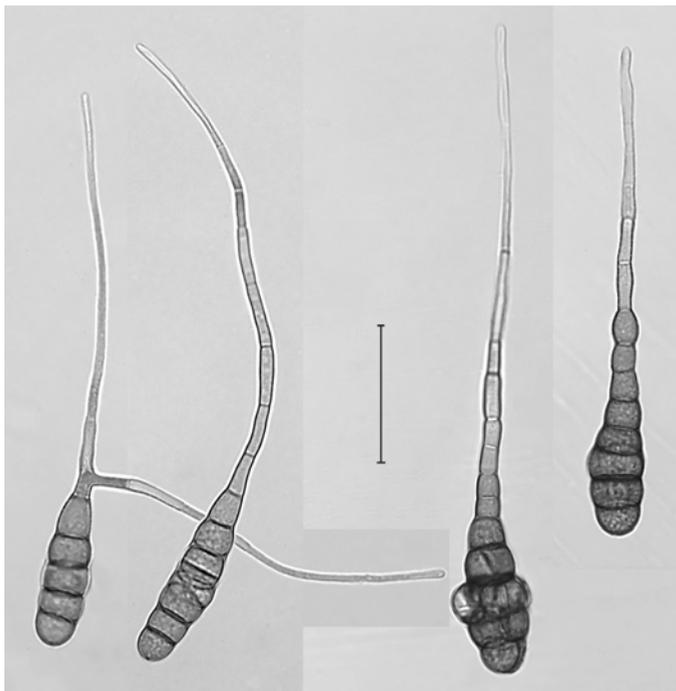


Рис. 11. *Alternaria calendulae*: конидии на КМА (слева) и на V-4 (справа). Масштабная линия соответствует 50 мкм.

На листьях календулы вызывает появление пятнистости. Пятна крупные, до 1 см в диаметре и более, округлые коричневые или тёмно-коричневые с зональностью.

A. cucumerina (Ellis et Everh.) Elliott 1917

≡ *Macrosporium cucumerinum* Ellis et Everh. 1895

Колонии быстрорастущие, серые, зеленовато-серые. Массовое спороношение наблюдается на средах КМА и V-4.

На V-4 конидии одиночные, желтовато-коричневые. Тело зрелых конидий широкоовальное, до 75-110 × 17-25 мкм с 8-12 поперечными перегородками и 1-2 продольными в 2-8 поперечных сегментах. Апикальный вырост простой, может оставаться недлинным (60-160 мкм) или достигать в длину более 300 мкм (рис. 12).

Встречается в разных частях мира на большей части территории возделывания восприимчивых к заболеванию тыквенных культур. Поражает огурцы, арбузы, разные виды тыквы (*Cucurbita* spp.) (Ellis, 1971). Был отмечен в Приморском крае (Нелен, 1961). Нами обнаружен на Северном Кавказе на листьях тыквы (Gannibal, 2011b).

Пятна на листьях округлые светло-коричневые, желтоватые или буровые, со светло-коричневым или бледно-зелёным ободком, более крупные пятна могут иметь

зональность. Иногда поражает плоды. В США эпифитотии альтернариоза тыквы приводят к дефолиации и, как следствие, к значительным количественным потерям урожая – до 30% (Latin, 1992) и снижению качества плодов из-за уменьшения доли растворимых сухих веществ (Latin et al., 1994).

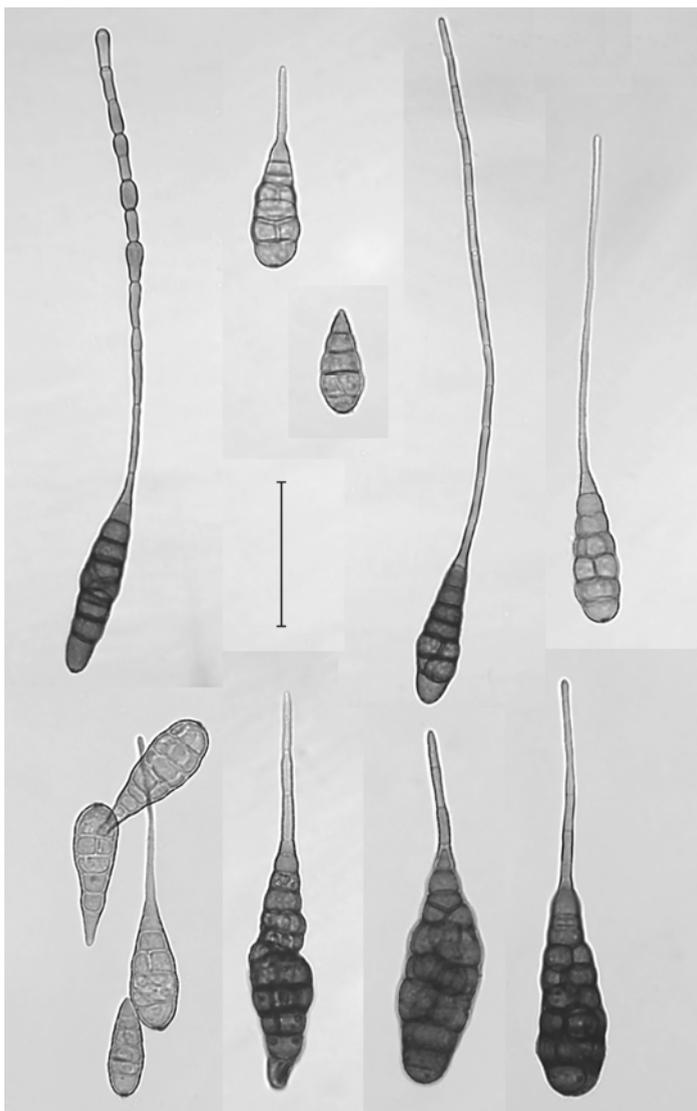


Рис. 12. *Alternaria cucumerina*: конидии на КМА (сверху) и на V-4 (снизу). Масштабная линия соответствует 50 мкм.

- A. dauci* (J.G. Kühn) Groves et Skolko 1944
 ≡ *Polydesmus exitiosus* (J.G. Kühn) Rabenh. var. *dauci* J.G. Kühn 1855
 ≡ *Sporidesmium exitiosum* J.G. Kühn var. *dauci* J.G. Kühn 1855
 ≡ *Macrosporium dauci* (J.G. Kühn) Rostr. 1888
 = *Macrosporium carotae* Ellis et Langl. 1890
 ≡ *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. var. *dauci* (J.G. Kühn) Lindau 1908
 = *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. var. *dauci* (J.G. Kühn) Bolle 1924
 = *Alternaria carotae* (Ellis et Langl.) J.A. Stev. et Wellman 1944
 ~ *Alternaria dauci* (J.G. Kühn) Neerg. 1945
 ≡ *Alternaria porri* (Ellis) Ciferri f.sp. *dauci* (J.G. Kühn) Neerg. 1945
 = *Alternaria carotae* (Ellis et Langl.) Ciferri 1962

Колонии относительно быстрорастущие, серые, зеленовато-серые. Массовое спороношение наблюдается на среде V-4.

Конидии преимущественно одиночные, оливковые, изредка тёмно-оливковые с орнаментированной клеточной стенкой. Корпус зрелых конидий достигает размера 65-115 × 15-22 мкм, несёт 8-13 поперечных перегородок и 1, иногда 2-3, продольных в нескольких поперечных сегментах. Апикальный вырост достигает 200-275 мкм в длину, изредка ветвиться; боковое ответвление до 90-180 мкм длиной (рис. 13).

Космополит. На территории бывшего СССР чаще всего упоминался исследователями с Дальнего Востока (Приморский край) и из Белоруссии (Нелен, 1963; Иванюк, Свирыдаў, 1990). Нами был обнаружен в Московской области, Пермском крае и республике Бурятия.

Гриб вызывает поражение листьев моркови, именуемое ранним усыханием, макроспориозом, альтернариозом или бурой пятнистостью. Симптомы заболевания сходны с симптомами бурой пятнистости, вызываемой *A. radicina* и другими листовыми пятнистостями моркови. В связи с тем, что эти два вида *Alternaria* отличаются друг от друга по своим экологическим свойствам и типу причиняемого вреда, рекомендуется внимательнее относиться к идентификации возбудителя. Заболевание, вызываемое *A. dauci* мы предлагаем называть бурой пятнистостью, а *A. radicina* – альтернариозом. В любом случае во избежание путаницы необходимо помимо названия болезни указывать возбудителя.

При поражении *A. dauci* в середине июня или позже на черешках и листовых пластинках появляются бурые точки и штрихи, постепенно приводящие к усыханию кончиков листьев, а затем полному отмиранию преимущественно нижних листьев. При сильном поражении в корнеплодах уменьшается содержание каротина и сахаров, урожай может снижаться на 20-40% (Нелен, 1963), а по некоторым данным на 40-60% (Ben-Noon et al., 2001). При значительном поражении наблюдается отмирание ботвы, которое снижает эффективность механизированной уборки, так как часть корнеплодов остаётся в почве (Pryor et al., 2002).



Рис. 13. *Alternaria dauci*: конидии на КМА (слева) и на V-4 (справа). Масштабная линия соответствует 50 мкм.

A. helianthiinficiens E.G. Simmons, Walcz et R.G. Roberts (в оригинале *helianthinfiens*) 1986

Колонии *A. helianthiinficiens* на V-4 на 7 сутки роста достигают 60–65 мм в диаметре, тёмно-серые, почти чёрные. Воздушный мицелий серый, пушистый в центре колонии скудный, по периферии почти отсутствует. Реверс колонии в центре красновато-коричневый, по краю оливково-чёрный. Интенсивное спороношение появляется на 5–7 сутки или позже.

Конидиеносцы одиночные или в небольших группах, простые или ветвящиеся 50–90(200) мкм длиной с 1–3 конидиогенными порами на вершине. Конидии одиночные или в цепочках по 2, реже по 3. Базальные конидии иногда несут по 1 апикальному и 1–4 боковых вторичных конидиеносца, 5–30 × 4 мкм, каждый из которых имеет 1–3 конидиогенных локуса. В колониях 3-недельного

возраста спороношение приобретает вид «кустиков», насчитывающих до 20–30 конидий. Большая часть спор яйцевидные или широко эллиптические 30–60 × 14–22(30) мкм. Некоторые конидии имеют яйцевидный, эллиптический, широко эллиптический или мешковидный корпус 50–80(93) × 18–23(29) мкм и нитевидный апикальный вырост 20–150 мкм длиной и 2–4 мкм толщиной. Корпус конидии имеет 4–7(9) поперечных перегородок и 4–11 продольных и косых перегородок. Вырост несёт обычно несколько (до 6) поперечных перегородок (рис. 14).

На КМА конидии *A. helianthiinficiens* часто одиночные и не образуют густых «кустиков». Корпус конидий более мелкий по сравнению с таковым на V-4 – 35–65 × 16–20 мкм. Значительная часть конидий имеет нитевидный апикальный вырост, который иногда достигает в длину 240 мкм и имеет до 8 перегородок.

Вид *A. helianthiinficiens* был обнаружен в США (Simmons, 1986), Югославии (Aćimović, Lačok, 1991), Южной Корее (Cho, Yu, 2000). В России единичные находки данного вида сделаны в Краснодарском и Алтайском краях (Ганнибал, 2011). Вызывает пятнистость листьев и стеблей подсолнечника. Патогенность *A. helianthiinficiens* сравнима с таковой *Alternariaster helianthi* (Aćimović, Lačok, 1991).

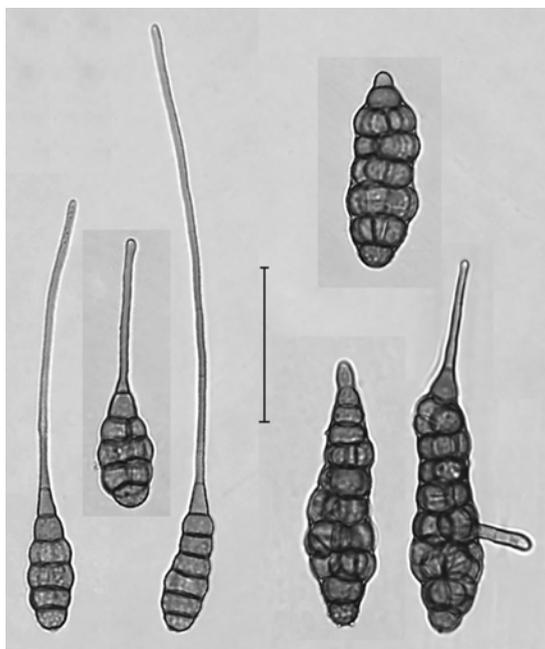


Рис. 14. *Alternaria helianthiinficiens*: конидии на КМА (слева) и на V-4 (справа). Масштабная линия соответствует 50 мкм.

A. japonica Yoshii 1941

= *Alternaria mattirolae* Neerg. 1945

= *Alternaria raphani* J.W. Groves et Skolko 1944

Скорость роста на КМА и V-4 умеренная. Интенсивность спороношение в большой степени зависит от штамма, может быть обильной и на КМА, и на V-4.

Спороношение имеет вид цепочек, состоящих из 2-4(6) конидий. Конидии коричневые, базовая форма коротко- или вытянуто-овальная, у перегородок сильные перетяжки. Зрелые конидии часто ассиметричные. Часть из них короткие широко-овальные с 2-3 поперечными и 1-2 продольными перегородками в 1-3 сегментах, 35-45 × 20-24 мкм. Другая часть конидий более длинные с 5-7 поперечными и 1-2 продольными перегородками в нескольких поперечных сегментах, 55-70 × 18-22 мкм. Вторичные конидиеносцы от очень коротких до относительно длинных (до 60 мкм), преимущественно апикальные, в старых культурах иногда латеральные, позволяющие цепочкам спор ветвиться. Хламидоспоры имеют вид цепочек или клубочков толстостенных округлённых клеток (рис. 15). Со временем хламидоспоры увеличиваются в размере, темнеют и превращаются в тёмно-коричневые микросклерозии. В старых культурах на КМА микросклерозии могут становиться заметны на просвет невооружённым глазом.

Вид обнаружен на растениях родов *Brassica*, *Matthiola* и *Raphanus* в северном полушарии: в странах Северной Америке и Европы, в Египте, Индии, Южной Корее и Японии. В России отмечен на редьке, редисе, репе, репе, репе и левкое на Северном Кавказе, в центре Европейской части России и Приморском крае (Ганнибал, Гасич, 2009).

Чаще всего поражает стебли и стручки, реже листья, вызывая чёрную пятнистость (альтернариоз). Пятна округлые тёмно-серые или чёрные. Заболевание приводит к уменьшению массы 1000 семян и снижению их всхожести. Иногда гриб вызывает поражение корнеплодов при хранении (Su et al., 2005). На корнеплодах обычно вокруг повреждений кожицы появляются чёрные или тёмно-коричневые пятна, которые могут приводить к гнили.

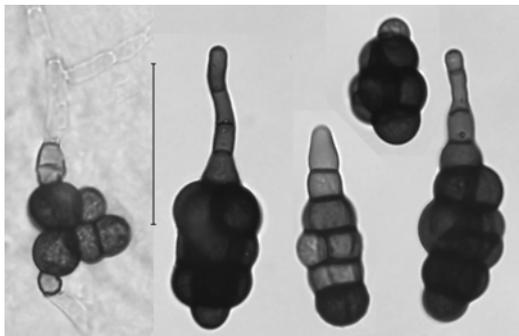


Рис. 15. *Alternaria japonica*: хламидоспора (слева) и конидии (справа) на КМА. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

A. porri (Ellis) Cif. 1930

- ≡ *Macrosporium porri* Ellis 1879
- ≡ *Alternaria porri* (Ellis) Sawada 1933
- ≡ *Alternaria porri* (Ellis) Neerg. 1938

Колонии относительно быстрорастущие, серые, зеленовато-серые. Интенсивное спороношение наблюдается на среде V-4.

Конидии одиночные желтовато-коричневые. Тело зрелых конидий вытянутоэллипсоидальное, до 70-105 × 19-24 мкм с 8-12 поперечными перегородками и 1(2) продольными в 2-7 поперечных сегментах. Апикальный вырост простой, иногда состоящий из двух, реже трёх ветвей, 95-160 мкм длиной (рис. 16).

Космополит. Поражаются различные виды рода *Allium* (не менее 7 видов лука и чеснока [Yu, 2001]), чаще всего страдают репчатый лук и лук-порей. На территории бывшего СССР наиболее сильное поражение лука наблюдалось в Приморском крае (Нелен, 1963; Егорова, 1999). Нами *A. porri* отмечен в Иркутской, Московской областях и Белоруссии.

Пятна на листьях и стрелках обычно крупные, до 2 см длиной, продолговато-овальные фиолетовые с пурпурным ободком, иногда опоясывающие, приводящие к отмиранию листа или стрелки и быстрому развитию на них сапротрофных грибов. Пятнистость резко снижает товарные качества лука на перо и приводит к щуплости 25-75% семян (Нелен, 1963). Сходные симптомы на луке появляются при заражении его *Stemphylium vesicarium*.

На луке описано ещё 4 вида *Alternaria* по морфологии сходных с *A. porri*, также вызывающих вредоносные заболевания листьев. Например, в прошлом были зарегистрированы случаи полной гибели листьев репчатого лука в Пуэрто-Рико от *A. allii* Nolla, что приводило к 100%-ной потерям урожая (Nolla, 1927).

- A. radicina*** Meier, Drechsler et E.D. Eddy 1922
- ≡ *Thyrospora radicina* (Meier, Drechsler et E.D. Eddy) Neerg. 1938
- ≡ *Stemphylium radicinum* (Meier, Drechsler et E.D. Eddy) Neerg. 1937
- ≡ *Pseudostemphylium radicinum* (Meier, Drechsler et E.D. Eddy) Subram. 1961
- = *Macrosporium daucinum* Yatel, 1938

Скорость роста на КМА и V-4 умеренная, спороношение обильное. Колонии тёмно-зелёные, тёмно-оливково-чёрные.

Конидии одиночные, цепочки появляются крайне редко. Конидии коричневые или тёмно-коричневые от эллипсоидальных до широкоовальных и яйцевидных, 42-63 × 15-25 мкм, с 4-8 поперечными и 1-3 продольными перегородками в нескольких или во всех сегментах, исключая базальную клетку (рис. 17).

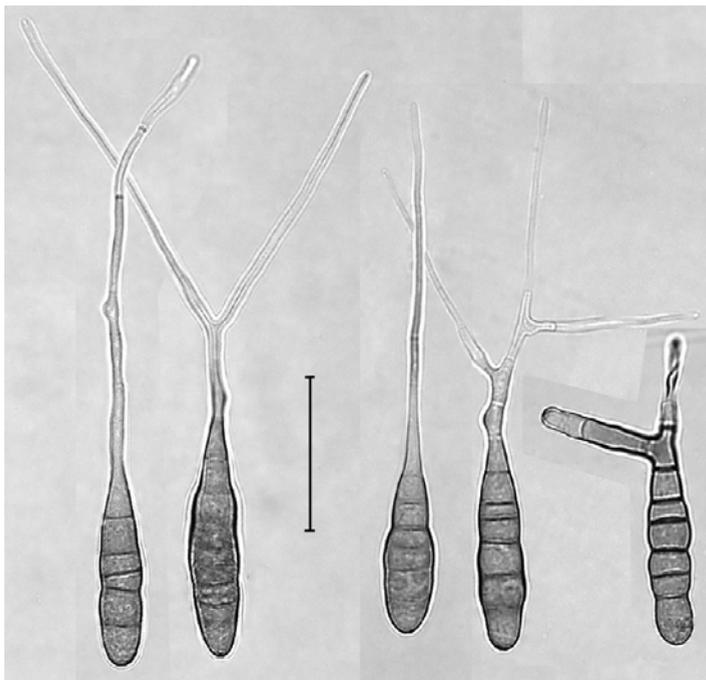


Рис. 16. *Alternaria porri*: конидии на КМА (слева) и на V-4 (справа). Масштабная линия соответствует 50 мкм.

Космополит. На территории бывшего СССР впервые зарегистрирован в 1933 г. в окрестностях Ленинграда. В настоящее время встречается почти на всей территории возделывания моркови. Кроме моркови несколько раз отмечался на других растениях семейства зонтичных, что могло явиться результатом ошибочной идентификации, т.к. помимо *A. radicina* на зонтичных описано ещё 5 морфологически близких видов.

Гриб вызывает чёрную гниль (альтернариоз) корнеплодов и бурую пятнистость (альтернариоз) листьев моркови. Семенная инфекция может приводить к гибели всходов по типу чёрной ножки. Симптомы листовой пятнистости сходны с симптомами, вызываемыми *A. dauci* и другими пятнистостями листьев моркови. В связи с тем, что эти два вида *Alternaria* отличаются друг от друга по своим экологическим свойствам и типу причиняемого вреда, рекомендуется внимательнее относиться к идентификации возбудителя. Заболевание листьев, вызываемое *A. radicina* мы предлагаем называть альтернариозом, а *A. dauci* – бурой пятнистостью. В любом случае во избежание путаницы необходимо помимо названия болезни указывать возбудителя.

При заражении надземных органов грибом *A. radicina* черешки буреют, затем чернеют, на кончиках листьев появляются бурые пятна, постепенно

приводящие к скручиванию и полному усыханию преимущественно нижних листьев. Поражение листьев приводит к небольшому снижению урожайности, поражение генеративных органов – к снижению урожая семян и их всхожести. Семенная инфекция может приводить к поражению всходов и их гибели (Coles, Wicks, 2003). При значительном поражении наблюдается отмирание ботвы, которое снижает эффективность механизированной уборки, так как часть корнеплодов остаётся в почве (Pryor et al., 1994).

При хранении корнеплодов чёрная гниль проявляется сначала как плесневение оставшихся частей черешков, которые покрываются серым пушистым налётом. На корнеплодах, чаще на их верхней части, образуются чёрные вдавленные сухие пятна. Легче всего поражаются корнеплоды с механическими повреждениями. Заболевание приводит к уничтожению части урожая, порче его товарного вида и значительному выпадку семенников. При сильном распространении заболевания в поле, к весне 100% хранящихся корнеплодов может быть поражено гнилью (Вахрушева, 1973). Патоген сохраняется в почве до 8 лет (Maude, Moule, 1971).



Рис. 17. *Alternaria radicina*: конидии на КМА. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

A. solani Sorauer 1896

= *Macrosporium solani* Ellis et G. Martin 1882

= *Alternaria solani* (Ellis et G. Martin) Jones 1896

= *Alternaria solani* (Ellis et G. Martin) Sorauer 1897

= *Alternaria solani* (Ellis et G. Martin) Jones et Grout 1899

= *Sporidesmium solani*[-]varians Vañha 1904

- = *Alternaria americana* Sawada 1931
- = *Alternaria porri* (Ellis) Neerg. f. sp. *solani* (Ellis et G. Martin) Neerg. 1945
- = *Alternaria dauci* (Kühn) Neerg. f. sp. *solani* (Ellis et G. Martin) Neerg. 1945
- = *Alternaria porri* (Ellis) Sawada f. sp. *solani* (Ellis et G. Martin) Neerg. 1945
- = *Alternaria dauci* (Kühn) Groves et Skolko. f. sp. *solani* (Ellis et G. Martin) Neerg.

1945

Колонии быстрорастущие, серые, зеленовато-серые. Интенсивное спороношение наблюдается на среде V-4 при ярком освещении, у некоторых изолятов спороношение скудное при любых условиях.

Конидии одиночные, очень редко в цепочках по две, от светло-соломенных до желтовато-коричневых, изредка с орнаментированной клеточной стенкой. Корпус зрелых конидий длинно-овальный или эллипсоидальный, до $109-115 \times 18-26$ мкм с 7-11 поперечными перегородками и 1(2) продольными в нескольких поперечных сегментах. Апикальный вырост простой, иногда состоящий из двух, реже трёх ветвей, 60-118 мкм длиной (рис. 18).



Рис. 18. *Alternaria solani*: конидии на КМА (слева) и на V-4 (справа). Масштабная линия соответствует 50 мкм.

Космополит. Часто встречается в Омской и Псковской областях, республике Адыгея, Хабаровском и Приморском краях, местами в Камчатском крае. Иногда обнаруживается в Иркутской, Кировской, Тамбовской и Ленинградской областях (Ганнибал, 2007; Орина и др., 2010). Следует отметить, что данный список находок *A. solani* не претендует на полноту. Развитию патогена способствуют условия жаркого лета с частыми, но кратковременными дождями и утренними росами. Анализ климатических условий в разных регионах показал, что благоприятные для данного вида условия существуют в центре и на западе Европейской части России, на Северном Кавказе, на юге Западной Сибири, на юге Прибайкалья и на юге Дальнего Востока (Орина и др., 2010).

Ранее *A. solani* считался возбудителем альтернариоза (макроспориоза, ранней сухой пятнистости) картофеля, томатов и баклажанов, однако установлено, что этот вид приурочен преимущественно к картофелю и лишь изредка заражает томаты. На томатах распространён сходный по морфологии вид – *A. tomatophila*.

При заражении листьев грибом *A. solani* на листьях картофеля появляются коричневые или сероватые округлые пятна с хорошо заметными концентрическими крутами. Диаметр пятен на некоторых сортах картофеля достигает 1,5 см. поражённая ткань сухая и хрупкая. В Европейской части страны при благоприятных погодных условиях болезнь может появиться уже в конце июня. По результатам обзора литературы Дж. Ротемом (Rotem, 1994) установлено, что потери урожая клубней от альтернариоза могут достигать до 20%, хотя есть сообщения о более серьёзных потерях, особенно ранних сортов – до 40% (Иванюк и др., 2003).

A. tomatophila E.G. Simmons

Колонии быстрорастущие, серые, зеленовато-серые. Интенсивное спороношение наблюдается на среде V-4 при ярком освещении, у некоторых изолятов спороношение скудное при любых условиях культивирования.

Конидии одиночные, очень редко в цепочках по две, от светло-соломенных до желтовато-коричневых, изредка с орнаментированной клеточной стенкой. Корпус зрелых конидий узко-эллипсоидальный, до 80-117 × 16-23 мкм с 7-12 поперечными перегородками и 1(2) продольными в 1-5 поперечных сегментах. Апикальный вырост простой, состоящий из 1-3(4) ветвей, 64-217 мкм длиной. Одиночные выросты более длинные, чем выросты, формирующиеся по 2 или более. Тройные выросты не превышают 170 мкм в длину (рис. 19).

Вероятно космополит. На настоящий момент достоверно обнаружен на томатах в США, Австралии, Новой Зеландии, Венесуэле, Бразилии (Simmons, 2007; Rodrigues et al., 2010) и Южной Кореи (Yu, 2001). В России на томатах открытого грунта *A. tomatophila* часто встречается в Хабаровском крае, республиках Адыгея и Дагестан. Единичные находки сделаны в Камчатском крае, Московской, Саратовской, Псковской и Ленинградской областях (Орина, Ганнибал, неопубл.). Кроме того, присутствие крупноспорового вида *Alternaria*, вероятно *A. tomatophila*, на томатах отмечено в Астраханской обл. и республике Марий-Эл (Еланский и др., 2010). В

защищённом грунте на томатах *A. tomatophila* обнаружен нами в Камчатском крае, Иркутская области, в Белоруссии (Минская обл.) и на Украине (Харьковская обл.). В связи с недавними таксономическими нововведениями и нередкими ошибками идентификации, очертить ареал *A. tomatophila* более точно пока что не представляется возможным.

На листьях томатов *A. tomatophila* вызывает альтернариоз (макроспориоз, раннюю сухую пятнистость). Пятна крупные бурые или сероватые округлые с хорошо заметными концентрическими кругами. Потери урожая плодов от заболевания могут достигать 78% (Rotem, 1994).

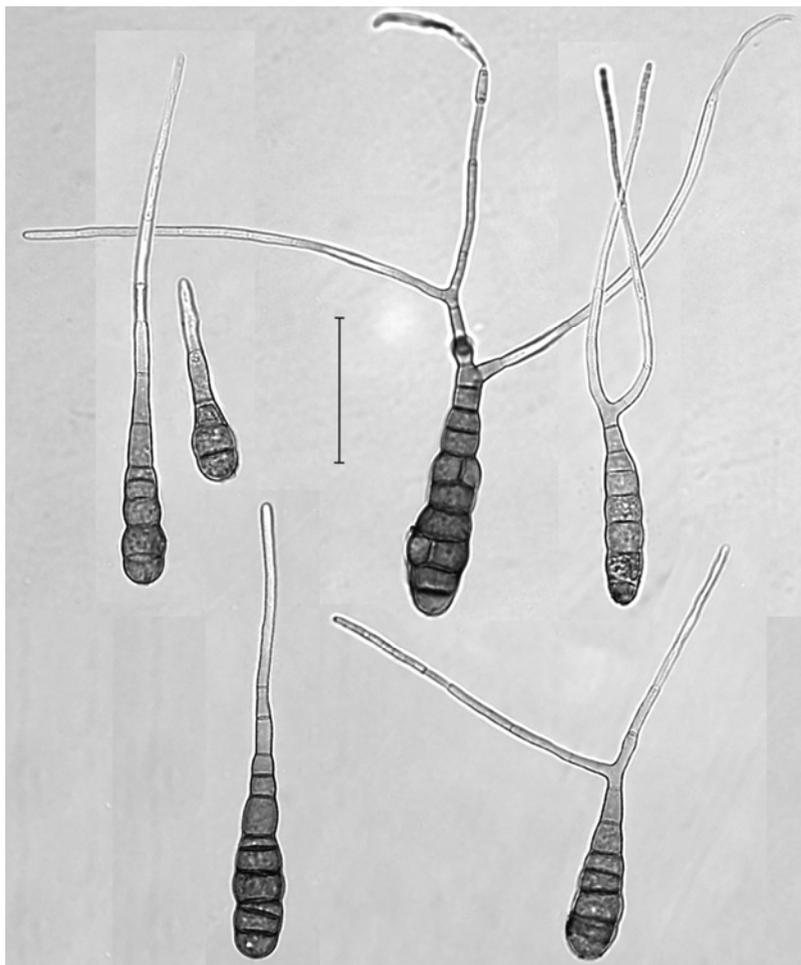


Рис. 19. *Alternaria tomatophila*: конидии на КМА (сверху) и на V-4 (снизу). Масштабная линия соответствует 50 мкм.

A. zinniae H. Pape ex M.B. Ellis 1972

~ *Alternaria zinniae* H. Pape 1942

Колонии быстрорастущие, серые или оливково-серые. Интенсивное спороношение наблюдается на среде V-4.

Конидии одиночные, редко в цепочках по две, коричневые, изредка тёмно-коричневые с орнаментированной клеточной стенкой. Тело зрелых конидий длинно-овальное или эллипсоидальное, до 65-80(100) × 19-25(27) мкм с 8-14 поперечными перегородками и 1-2(3) продольными в большинстве поперечных сегментов. Апикальный вырост простой, до 80-150 мкм длиной (рис. 20).

Отмечен на цинниях и ещё нескольких растениях семейства сложноцветные на всех континентах (Ellis, 1976; Yu, 2001). Однако впоследствии большинство находок не на циннии было описано как новые виды, поэтому распространение и субстратная специализация требуют уточнения. В России на цинниях выявлен в Приморском крае (Егорова, 1999), Томской области и Республике Адыгея. На листьях циннии вызывает появление округлых или неправильной формы некрупных (5-7 мм) сначала светлых, затем коричневых или серо-коричневых пятен, окружённых широкой пурпурной каймой.

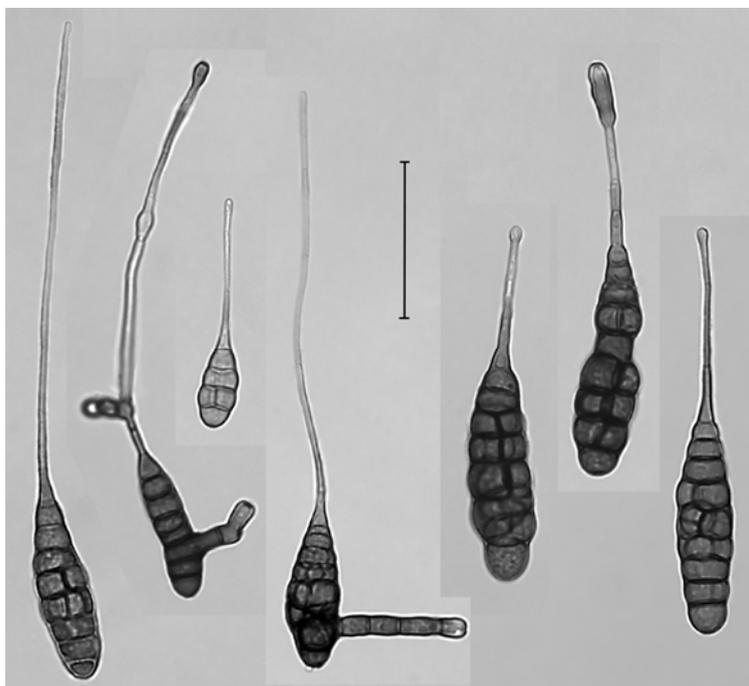


Рис. 20. *Alternaria zinniae*: конидии на КМА (слева) и на V-4 (справа). Масштабная линия соответствует 50 мкм.

Alternariaster helianthi (Hansf.) E.G. Simmons 2007

≡ *Helminthosporium helianthi* Hansf. 1943

= *Alternaria helianthi* (Hansf.) Tubaki et Nishih. 1969

~ *Embellisia helianthi* (Hansf.) Pidopl. 1977

Колонии на КМА и V-4 медленнорастущие, серые, оливково-серые, пушистые.

Конидии одиночные, бледно-серо-жёлтые или бледно-коричневые, узкоовальные, эллипсоидальные или почти цилиндрические на концах закруглённые, до 80-130(160) × 18-23(30) с 7-10(12) поперечными перегородками, без продольных перегородок или иногда с одной в 1(2-4) поперечных сегментах (рис. 21).

Патоген распространён почти на всей территории возделывания культуры. Наиболее вредоносен в Бразилии и Индии. На территории бывшего СССР впервые зарегистрирован в 1978 г. в Краснодарском крае. Впоследствии, по мнению некоторых исследователей, распространился по многим районам бывшего СССР (Тихонова, Алифирова, 1988). В последние годы отмечен на юге Европейской части России и в Приморском крае (Ганнибал, 2011).

Вызывает тёмно-бурую пятнистость (альтернариоз, «эмбеллизию») подсолнечника. На листьях пятна вначале мелкие, немного угловатые, впоследствии могут достигать 2-3 см в диаметре, тёмно-коричневые, с более светлым краем, окружены жёлтой зоной. На стеблях пятна чёрные, от округлых до полосовидных, на чашелистиках коричнево-чёрные, иногда концентрические, на лепестках эллиптические коричневые. Потери урожая семян от тёмно-бурой пятнистости оцениваются разными специалистами от 8 до 84% (Lagopodi, Thanassouloupoulos, 1998). Максимальный недобор урожая был зафиксирован в Индии (Balasubrahmanyam, Kolte, 1980; Kolte, 1985). У образовавшихся семян масличность может быть ниже нормы на 2-52%, а масса 1000 семян – на 50% (Lagopodi, Thanassouloupoulos, 1998).

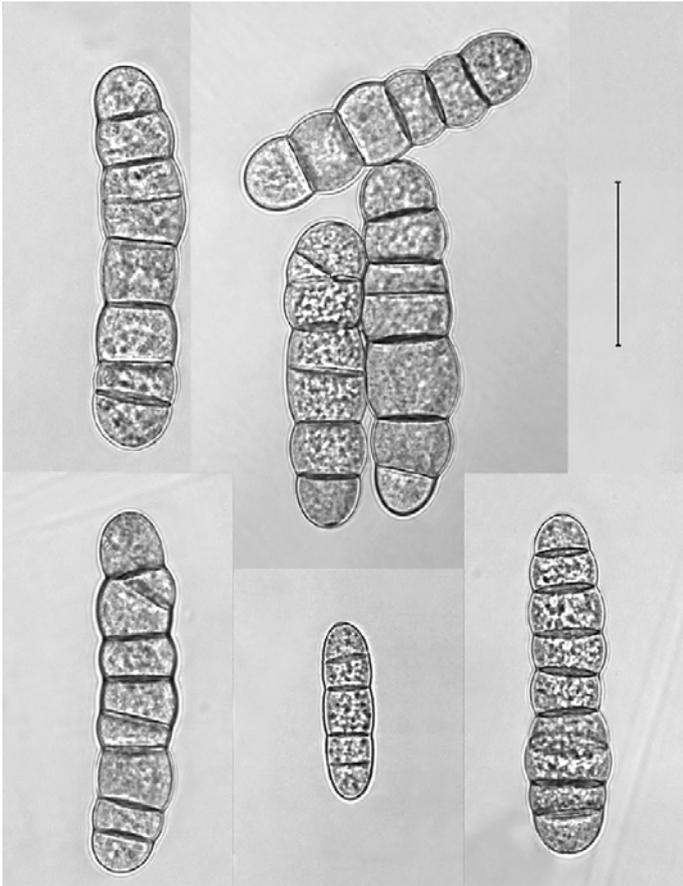


Рис. 21. *Alternariaster helianthi*: конидии на КМА. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

7. Библиография и информационные ресурсы

Полноценные современные русскоязычные определители альтернариоидных гифомицетов, встречающихся на территории России, отсутствуют. Лишь несколько наиболее распространённых фитопатогенных видов упоминается в недавно изданных определителях болезней растений и справочниках по защите растений. Последней работой, претендующей на полноту перечисления видов, содержащей относительно подробные описания и некоторые иллюстрации, является определитель «Грибы-паразиты культурных растений» Н.М. Пидопличко (1977). К сожалению, эта книга существенно устарела и не может быть рекомендована для использования.

Существует также несколько определителей, изданных на английском языке: Ellis, 1971, 1976; Yu, 2001. Содержащаяся в них информация также частично устарела и не является полной, однако при наличии у читателя данных изданий они вполне могут быть использованы для идентификации видов *Alternaria*.

В 2007 г вышел в свет «Определитель грибов рода *Alternaria*» Э.Симмонса (Simmons, 2007), являющийся практически полной сводкой по систематике рода.

Ниже приводим некоторые общедоступные Интернет-ресурсы, которые, на наш взгляд, могут быть полезны при проведении мониторинга альтернариозов и идентификации видов *Alternaria*.

Агроатлас (http://www.agroatlas.ru/index_ru.htm) (Афонин и др., 2008) – ГИС-проект, содержащий около 1500 карт и описаний наиболее важных сельскохозяйственных культур и вредных объектов, включая возбудителей болезней, распространённых на территории бывшего СССР. Несмотря на то, что Агроатлас является амбициозным и очень полезным проектом, технология его создания вынуждает относиться с некоторой долей осмотрительности к представленной в нём информации (границы ареалов, описание возбудителей болезней, номенклатура возбудителей и т.д.), по крайней мере, в части касающейся альтернариозов. В настоящий момент в Агроатласе представлены 9 альтернариозов и, к сожалению, некоторые серьёзные заболевания, вызываемые видами *Alternaria*, пока что в Агроатлас не попали.

Alternaria.ru (<http://alternaria.ru>) – русскоязычный информационно-справочный проект, посвящённый идентификации наиболее распространённых в России видов *Alternaria*. На сайте размещены статьи с рекомендациями по идентификации видов, фотографии микроструктур гриба, колоний и симптомов болезней растений, вызываемых *Alternaria* spp. Опубликованы рецепты питательных сред и советы по их использованию, приведены последовательности видоспецифичных ПЦР-праймеров, pdf-версии научных статей и ссылки на web-ресурсы по близким темам.

ВНИИ фитопатологии (http://vniif.ru/index.php?option=com_content&view=article&id=40&Itemid=30&lang=ru) – программа для расчёта потерь урожая картофеля

по кривой развития листовой пятнистости (фитофтороз, альтернариоз) в течение вегетации.

IndexFungorum (<http://www.speciesfungorum.org/Names/Names.asp>) – база данных видовых названий грибов, удобна для уточнения современных названий видов и синонимов, для проверки правильности написания названий видов и их авторов.

Mycobank (<http://mycobank.org>) (Crous et al., 2004) – база данных видовых названий грибов, удобна для уточнения современных названий видов и синонимов, для проверки правильности написания названий видов и их авторов. Приводятся описания видов, рисунки и библиография. Микобанк представляет собой наиболее современный и полноценный ресурс, посвящённый систематике и номенклатуре грибов.

Приложение

Питательные среды

Картофельно-морковный агар (КМА, в англоязычной литературе – PCA).

Метод 1 (Dhingra, Sinclair, 1995): по 20 г мытых очищенных и нарезанных кусочками картофеля и моркови варить в течение часа в 1 л воды. Пропустить через мелкое сито. Добавить 20 г агара и довести объём жидкости до 1 л. Стерилизовать (автоклавируют).

Метод 2 (Simmons, 2007): автоклавируют по 20 г нарезанного белого картофеля и нарезанной моркови в небольшом количестве воды 20-30 мин. Пропустить суспензию через мелкое сито (не для фильтрации), разбавить суспензию до 1 л дистиллированной водой. Добавить агар, стерилизовать; pH не измеряется.

Метод 3 (Kirk et al., 2008): по 20 г мытых очищенных и тёртых картофеля (не использовать картофель нового урожая) и моркови варить в течение часа в 500 мл водопроводной воды. Пропустить через мелкое сито. В кастрюле добавить 20 г агара к 500 мл воды. Когда агар разойдётся, добавить процеженную жидкость и перемешать. Стерилизовать 20 мин. при 121°C.

Сенной агар (в англоязычной литературе – NAY) (Simmons, 2007): 50 г сухой перезимовавшей соломы и листьев злаков. Стерилизовать в 1 л дистиллированной воды 30 мин. Отфильтровать через несколько слоёв марли. Довести объём фильтрата до 1 л. Добавить 2 г двузамещённого фосфорнокислого калия и 20 г агара. Автоклавируют 10 мин. Довести pH до 6,0-6,5. Стерилизовать 30 мин. при 121°C.

V-8 (Simmons, 2007): 175 мл готовой смеси овощных соков V8, 3 г карбоната кальция, 20 г агара; довести дистиллированной водой до 1 л. Стерилизовать 30 мин. при 110°C (pH около 6,4).

V-4 (Михайлова и др., 2002): 150 мл соковой смеси, включающей соки свёклы, сельдерея, моркови и томата в соотношении 4:3:2:1, 3 г карбоната кальция, 850 мл воды и 20 г агара. Концентрация соковой смеси при необходимости может быть изменена в широких пределах (10-50%). Стерилизовать 30 мин. при 121°C.

DRYES (Frisvad, 1983): 20 г дрожжевого экстракта, 150 г сахарозы, 1,0 мл дихлорана (0,2% в этаноле), 0,5 мл бенгальского розового (5%), 0,1 г хлорамфеникола, 20 г агара; довести водой до 1 л. Стерилизовать, довести pH до 5,6.

YES (Samson et al., 2000): 20 г дрожжевого экстракта, 150 г сахарозы, 20 г агара, 1 л дистиллированной воды. Стерилизовать.

Литература

Агейчик В.В., Полозняк Е.Н., Сорока С.В., Саскевич П.А. Крестоцветные культуры. В: Интегрированные системы защиты сельскохозяйственных культур от вредителей, болезней и сорняков: рекомендации. Под ред. С.В.Сороки. Минск, НАН Респ. Беларусь, ИЗР НАН Беларуси, Бел. Наука, 2005, с. 219–229.

Афонин А.Н., Грин С.Л., Дзюбенко Н.И., Фролов А.Н. (ред.) Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения [Интернет-версия 2.0], 2008 <http://www.agroatlas.ru>.

Барышкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г., Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы, М.: Издательство МГУ, 2004, 312 с.

Билай В.И., Элланская И.А. Основные микологические методы в фитопатологии. В кн.: Методы экспериментальной микологии. Справочник / Под ред. В.И.Билай. Киев: Наукова думка, 1982, 551 с.

Вахрушева Т.Е. О чёрной гнили моркови // Защита растений от вредителей и болезней. Л.-Пушкин, 1973, 212, с. 74–76.

Ганнибал Ф.Б. Видовой состав, таксономия и номенклатура возбудителей альтернариоза листьев картофеля // Лаборатория микологии и фитопатологии им. А. А. Ячевского ВИЗР. История и современность / Под ред. А.П.Дмитриева. СПб.: ВИЗР, 2007а, с. 142–148.

Ганнибал Ф.Б. Токсигенность и патогенность грибов рода *Alternaria* для злаков // Лаборатория микологии и фитопатологии им. А.А.Ячевского ВИЗР. История и современность / Под ред. А.П.Дмитриева. СПб.: ВИЗР, 2007б, с. 82–93.

Ганнибал Ф.Б. *Alternaria* spp. в семенах зерновых культур в России // Микология и фитопатология, 2008, 42, 4, с. 359–368.

Ганнибал Ф.Б. Видовой состав, систематика и география возбудителей альтернариозов подсолнечника в России // Вестник защиты растений, 2011, 1, с. 13–19.

Ганнибал Ф.Б., Гасич Е.Л. Возбудители альтернариоза растений семейства крестоцветные в России: видовой состав, география и экология // Микология и фитопатология, 2009, 43, 5, с. 79–88.

Ганнибал Ф.Б., Орина А.С., Левитин М.М. Альтернариозы сельскохозяйственных культур на территории России // Защита и карантин растений, 2010, 5, с. 30–32.

Гасич Е.Л. Фитотоксичность *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. и *A. alternata* (Fr.) Keissl., паразитирующих на рапсе в Ленинградской области // Микотоксины в экосистемах Санкт-Петербурга и Ленинградской области. Сб. тез. докл. межвуз. конф. СПб.: Менделеев, 2003, с. 47–53.

ГОСТ 12036-85. Семена сельскохозяйственных культур. Правила приемки и методы отбора проб. 2008.

ГОСТ 12044-93. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями. 2008.

ГОСТ 24933.0-81. Семена цветочных культур. Правила приемки и методы отбора проб. 2008.

ГОСТ 30360-96. Семена эфиромасличных культур. Методы определения зараженности болезнями. 2008.

Егорова Л.Н. Род *Alternaria* и близкие к нему гифомицеты с Дальнего Востока России. // Микология и фитопатология, 1999, 33, 1, с. 13–18.

Егорова Л.Н., Павлюк Н.А. Анаморфные грибы на цветочных растениях в Ботаническом саду-институте ДВО РАН // Микология и фитопатология, 2006, 40, 2, с. 93–100.

Еланский С.Н., Побединская М.А., Романова С.С., Александрова А.В., Пляхневич М.П. Устойчивость возбудителей фитофтороза и альтернариоза картофеля и томатов к некоторым фунгицидам // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2010, 1, с. 234–235.

Жукова М.В. Микроскопические грибы, развивающиеся на семенах пшеницы и кукурузы в период хранения // Автореф. ... к. б. н. Л., 1985, 21 с.

Иванюк В.Г., Банадысев С.А., Журомский Г.К. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков. Минск, РУП «Белорусский НИИ картофелеводства». 2003. 550 с.

Интегрированные системы защиты сельскохозяйственных культур от вредителей, болезней и сорняков: рекомендации. Под ред. С.В.Сороки. Минск, Нац. акад. наук Респ. Беларусь, Ин-т защиты растений НАН Беларуси, Бел. Наука, 2005, 462 с.

Ковалёва М.М., Гагкаева Т.Ю. Фузариоз колоса. В кн.: Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие. М.: Россельхозакадемия, 2008, с. 151–184.

Коваль Э.З., Горбик Л.Т. Микроскопическое изучение грибов. В кн.: Методы экспериментальной микологии. Справочник. Под ред. В.И.Билай. Киев: Наукова думка, 1982, 551 с.

Коняева Н.М., Золотарёва Е.В., Куликова Г.А., Локтина Г.И. Возбудители грибных болезней картофеля. В кн. Возбудители болезней сельскохозяйственных растений Дальнего Востока. Под ред. З.М.Азбукиной. М.: Наука, 1980, с. 251–293.

Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984, 480 с.

Мархасьова В.А. Чорний зародок пшениці та заходи боротьби з ним. Київ: Видавництво АН УРСР, 1957, 81 с.

Михайлова Л.А., Гоголева С.Г., Гульятяева Е.И. Взаимодействие штаммов *Bipolaris sorokiniana* и образцов пшеницы // Микология и фитопатология, 2002, 36, 2, с. 63–66.

Нелен Е.С. К биологии гриба *Macrosporium solani* Ell. et Mart. – возбудителя макроспориоза картофеля в Приморском крае // Сообщения дальневосточного филиала им. В.Л.Комарова СО РАН СССР. Владивосток, 1959, 2, с. 69–77.

Нелен Е.С. Грибы из родов *Alternaria*, *Macrosporium* и *Stemphylium*, включающих возбудителей болезней картофеля и овощных культур в Приморском крае // Автореф. ... к. б. н. Л., 1961, 18 с.

Нелен Е.С. Новые болезни овощей на Дальнем Востоке // Защита растений от вредителей и болезней, 1963, 12, с. 33–35.

Нелен Е.С. Патогенная Микофлора цветочных растений на Дальнем Востоке // Бюллетень Главного ботанического сада. М.: Наука, 1972, 83, с. 111–115.

Нелен Е.С., Васильева Л.Н. Патогенная Микофлора цветочных растений в Дальневосточном ботаническом саду // Бюллетень Главного ботанического сада. М.: Изд-во АН СССР, 1959, 35, с. 82–91.

Орина А.С., Ганнибал Ф.Б., Левитин М.М. Видовое разнообразие, биологические особенности и география грибов рода *Alternaria*, ассоциированных с растениями семейства *Solanaceae* // Микология и фитопатология, 2010, 44, 2, с. 150–159.

Остроумов Л.А., Просеков А.Ю., Архипов А.Н., Мудрикова О.В. Метод выделения растительной ДНК из растений и продуктов питания на их основе // Известия Самарского научного центра РАН, 2010, 12, 4(3), с. 722–724.

Пидопличко Н.М. Грибы-паразиты культурных растений. Определитель. Т. 2. Грибы несовершенные. Киев: Наукова думка, 1977, 300 с.

Поляков И.Я., Левитин М.М., Танский В.И. Фитосанитарная диагностика в интегрированной защите растений. М.: Колос, 1995. 208 с.

Попов Ф.А. Вредоносность альтернариоза семенников капусты // Защита растений, 1993, 10, с. 30.

Прищепя И.А., Колядко Н.Н., Попов Ф.А., Жердецкая Т.Н., Сорока С.В., Шинкоренко Е.Г., Волчкевич И.Г. Овощные культуры открытого грунта. В: Интегрированные системы защиты сельскохозяйственных культур от вредителей, болезней и сорняков: рекомендации. Под ред. С.В.Сороки. Минск: НАН Респ. Беларусь, ИЗР НАН Беларуси, Бел. наука, 2005, с. 290–348.

Санин С.С., Черкашин В.И., Назарова Л.Н., Соколова Е.А., Стрижекозин Ю.А., Ибрагимов Т.З., Неклеса Н.П. (сост.) Фитосанитарная экспертиза зерновых культур. (Болезни растений): Рекомендации. М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2002, 140 с.

Семёнов А.А., Потлайчук В.И., Хохряков М.К. (сост.) Диагностика грибных болезней семян хлебных и крупяных злаков. Методические указания. М., 1979, 42 с.

Сердюк О.А. Влияние альтернариоза на биохимический состав семян горчицы сарептской // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2006, 22, 6, 8 с.

Степанов К.М., Чумаков А.Е. Прогноз болезней сельскохозяйственных растений. Л.: Колос, 1972, 271 с.

- Тихонова О.И., Алифирова Т.П. Вредоносность эмбеллизии подсолнечника // *Болезни подсолнечника*. Краснодар: ВНИИМК, 1988, с. 19–23.
- Тютереv С.Л., Евстигнеева Т.А. Биохимические методы исследования индуцированной болезнестойчивости растений. СПб: ВИЗР, 2001, 67 с.
- Эльчибаев А.А. (сост.) Шкалы для оценки поражения болезнями сельскохозяйственных культур (методические рекомендации). Воронеж: ВНИИЗР, 1981, 82 с.
- Іванюк У.Р., Свірыдаў А.В. Бурая плямістость лісця морквы // *Весці акадэміі навук БССР. Серыя сельскагаспадарчых навук*, 1990, 1, с. 66–70.
- Асімовіч М., Лацок Н. *Alternaria helianthiinficiens* Simmons, Walcz and R. Roberts sp. Nov.: The causal agent of brown-red spot, a new sunflower disease // *Helia*, 1991, 14, Str. 129–145.
- Andersen B., Frisvad J.C. Natural Occurrence of Fungi and Fungal Metabolites in Moldy Tomatoes // *J. Agric. Food Chem.*, 2004, 52, 25, p. 7507–7513.
- Andersen B., Thrane U. Differentiation of *Alternaria infectoria* and *Alternaria alternata* based on morphology, metabolite profiles, and cultural characteristics // *Can. J. Microbiol.*, 1996, 42, p. 685–689.
- Andersen B., Thrane U., Svendsen A., Rasmussen I.A. Associated field mycobiota on malt barley // *Can J. Bot.*, 1996, 74, 6, p. 854–858.
- Andrew M., Peever T.L., Pryor B.M. An expanded multilocus phylogeny does not resolve morphological species within the small-spored *Alternaria* species complex. *Mycologia*, 2009, 101, p. 95–109.
- Anyanwu E.C., Kanu I., Nwachukwu N.C., Saleh M.A. Chronic Environmental exposure to *Alternaria tenuis* may manifest symptoms of neuropsychological illnesses: A study of 12 Cases // *J. Appl. Sci. Environ. Mgt.*, 2005, 9, 3, p. 45–51.
- Ausubel F.M., Brent R., Kingston R.E., Moore D.D., Seidman J.G., Smith J.A., Struhl K. (eds.). *Short protocols in molecular biology*. 5th edition. New York: John Wiley and Sons, Inc., 2002.
- Babadoost M., Gabriekson R.L. Pathogens causing *Alternaria* disease of Brassica seed crops in western Washington // *Plant Dis. Repr.* 1979, 63, p. 815–820.
- Balasubrahmanyam N., Kolte S.J. Effect of *Alternaria* blight on yield components, oil content and seed quality of sunflower // *Indian J. Agric. Sci.*, 1980, 50, 9, p. 701–706.
- Barksdale T.H. Resistance of tomato seedlings to early blight // *Phytopathology*, 1969, 59, p. 443–446.
- Bavbek S., Erkekol F.O., Ceter T., Mungan D., Ozer F., Pinar M., Misirligil Z. Sensitization to *Alternaria* and *Cladosporium* in patients with respiratory allergy and outdoor counts of mold spores in Ankara atmosphere, Turkey // *J. Asthma*, 2006, 43, 6, p. 421–426.
- Ben-Noon E., Shtienberg D., Shlevin E., Vintal H., Dinor A. Optimization of chemical suppression of *Alternaria dauci*, the causal agent of *Alternaria* leaf blight in carrots // *Plant Dis.*, 2001, 85, p. 1149–1156.

Brazauskiene I., Petraitiene E. The occurrence of *Alternaria* blight (*Alternaria* spp.) and *Phoma* stem canker (*Phoma lingam*) on oilseed rape in central Lithuania and pathogenic fungi on harvested seed // *J. Plant Prot. Res.*, 2006, 46, 3, p. 295–311.

Bulat S.A., Lübeck M., Mironenko N.V., Jensen D.F., Lübeck P.S. UP-PCR analysis and ITS1 ribotyping of strains of *Trichoderma* and *Gliocladium* // *Mycol. Res.*, 1998, 102, 8, p. 933–943.

Bush R.K., Prochnau J.J. *Alternaria*-induced asthma // *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004, 113, 2, p. 227–234.

Bussey M., Stevenson W. A leaf disk assay for detecting resistance to early blight caused by *Alternaria solani* in juvenile potato plants // *Plant Dis.*, 1991, 75, 4, p. 385–390.

Chaerani R., Voorrips R.E. Tomato early blight (*Alternaria solani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance // *General Plant Pathol.*, 2006, 72, 6, p. 335–347.

Cho H.S., Yu S.H. Three *Alternaria* Species Pathogenic to Sunflower // *Plant Pathol. J.*, 2000, 16, 6, p. 331–334.

Coles R.B., Wicks T.J. The incidence of *Alternaria radicina* on carrot seeds, seedlings and roots in South Australia // *Australasian Plant Pathol.*, 2003, 32, 1, p. 99–104.

Conn K.L., Tewari J.P., Awasthi R.P. A disease assessment key for *Alternaria* blackspot in rapeseed and mustard // *Can. Plant Dis. Sur.*, 1990, 70, p. 19–22.

Crous P.W., Gams W., Stalpers J.A., Robert V., Stegehuis G. (2004) MycoBank: an online initiative to launch mycology into the 21st century // *Studies in Mycology*, 50, p. 19–22.

Cubero O.F., Crespo A., Fatehi J., Brige P.D. DNA extraction and PCR amplification method suitable for fresh, herbarium-stored, lichenized, and other fungi // *Syst. Evol.*, 1999, 216, p. 243–249.

Da Motta S., Soares L.M.V. Survey of Brazilian tomato products for alternariol, alternariol momomethyl ether, tenuazonic acid and cyclopiazonic acid // *Food Additives and Contaminants*, 2001, 18, 7, p. 630–634.

Daebeler F., Amelung H. Auftreten und Bedeutung der *Alternaria* – Rapsschwarze im Winterraps // *Nachrichtenblatt für den Pflanzenschutz in der DDR*, 1988, 42, 10, p. 196–199.

Daebeler F., Amelung D., Riedel V. Untersuchungen über die Schädwirkung der durch *Alternaria* spp. Verursachten Rapsschwarze an Winterraps // *Wiss. Z. Wilhelm-Pieck-Univ., Rostock, Naturwiss. Reihe* 35, 1986, s. 52–54.

Datar V.V., Mayee C.D. Assessment of losses in tomato yield due to early blight // *Indian Phytopathol.*, 1981, 34, p. 191–195.

Delgado T., Gómez-Cordovés C. Natural occurrence of alternariol and alternariol methyl ether in Spanish apple juice concentrates // *J. Chromatogr. A*, 1998, 815, p. 93–97.

Dhingra O.D., Sinclair J.B. *Basic Plant Pathology Methods*. 2nd edition. Lewis Publishers (CRC Press), 1995, 434 p.

Dillard H.R., Cobb A.C., Lamboy J.S. Transmission of *Alternaria brassicicola* to cabbage by flea beetles (*Phyllotreta Cruciferae*) // *Plant Dis.*, 1998, 82, 2, p. 153–157.

Dixit A., Lewis W., Baty J., Crozier W., Wedner J. Deuteromycete aerobiology and skinreactivity patterns. A two year concurrent study in Corpus Christi, Texas, USA // Grana, 2000, 39, p. 209–218.

Dugan F.M., Lupien S.L. Filamentous fungi quiescent in seeds and culm nodes of weedy and forage grass species endemic to the Palouse Region of Washington and Idaho // Mycopathologia, 2002, 156, p. 31–40.

Ellis M.B. Dematiaceous Hyphomycetes. Kew: CAB International Mycological Institute, 1971, 608 p.

Ellis M.B. More dematiaceous Hyphomycetes. Kew: CAB International Mycological Institute, 1976, 507 p.

Evans E.J., Gladders P. Diseases of winter oilseed rape and their control, east and south-east England 1977–1981 // Proc. Brit. Crop Prot. Conf., Brighton, 1981, 2, p. 505–512.

Evans N., McRoberts N., Hill R.A., Marshall G. Phytotoxin production by *Alternaria linicola* and phytoalexin production by the linseed host // Ann. Appl. Biol., 1996, 129, 3, p. 415–431.

Fapohunda S.O., Olajuyigbe O.O. Studies on stored cereal degradation by *Alternaria tenuissima* // Acta Botanica Mexicana, 2006, 77, p. 31–40.

Ferrer C., Muñoz G., Alió J.L., Abad J.L., Colom F. Polymerase Chain Reaction Diagnosis in Fungal Keratitis Caused by *Alternaria alternata* // Am. J. Ophthalmol., 2002, 133, p. 398–399.

Frisvad J.C. A selective and indicative medium for groups of *Penicillium viridicatum* producing different mycotoxins in cereals // J. Appl. Bacteriol. 1983, 54, p. 409–416.

Fung F., Tappen D., Wood G. *Alternaria*- associated asthma // Appl. Occup. Environ. Hygiene, 2000, 15, p. 924–927.

Gannibal Ph.B. Understanding the phylogeny of the alternarioid hyphomycetes: what can the consequences be in taxonomy? // Systematics and Evolution of Fungi / J.K. Misra, J.P. Tewari, S.K. Deshmukh (eds.) Enfield: Science Publishers Inc., 2011a, p. 305–333.

Gannibal Ph.B. *Alternaria cucumerina* causing leaf spot of pumpkin newly reported in North Caucasus (Russia) // New Disease Reports. 2011b. (in press)

Gannibal Ph.B., Yli-Mattila T. Cultural and molecular differentiation of small-spored *Alternaria* species associated with Poaceae // Микология и фитопатология, 2005, 39, 4, с. 13–23.

Gannibal Ph.B., Yli-Mattila T. Morphological and UP-PCR analyses and design of a PCR assay for differentiation of *Alternaria infectoria* species-group // Микология и фитопатология, 2007, 41, 4, с. 313–322.

Guillemette T., Iacomi-Vasilescu B., Simoneau P. Conventional and real-time PCR-based assay for detecting pathogenic *Alternaria brassicae* in cruciferous seed // Plant Dis., 2004, 88, 5, p. 490–496.

Humpherson-Jones F.M. The occurrence of *Alternaria brassicicola*, *Alternaria brassicae* and *Leptosphaeria maculans* in brassica seed crops in south east England between 1976 and 1980 // Plant Pathol., 1983, 32, p. 33–39.

Iacomì-Vasilescu B., Blancard D., Guénard M., Molinero-Demilly V., Laurent E., Simoneau P. Development of a PCR-based diagnostic assay for detecting pathogenic *Alternaria* species in cruciferous seeds // *Seed Sci. and Technol.*, 2001, 30, p. 87–95.

Johnson R.D., Johnson L.J., Kohmoto K., Otani H., Lane C.R., Kodama M. A polymerase chain reaction-based method to specifically detect *Alternaria alternata* apple pathotype (*A. mali*), the causal agent of *Alternaria* blotch of apple // *Phytopathol.*, 2000, 90, 9, p. 973–976.

Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. Ainsworth and Bisby's Dictionary of fungi. 10th edition. CAB International, 2008, 771 p.

Kohmoto K., Otani H., Tsuge T. *Alternaria alternata* pathogens. In: K. Kohmoto, U.S. Singh, and R.P. Singh (eds.), Pathogenesis and host specificity in plant diseases. Histopathological, biochemical, genetic and molecular bases. Vol. II: Eukaryotes. Oxford: Pergamon, 1995, p. 51–63.

Kolte S.J. Diseases of annual edible oilseed crops // *Sunflower, safflower and nigerseed diseases*. Vol. III. CRC Press, 1985, p. 9–96.

Konstantinova P., Bonants P.J.M., van Gent-Pelzer M.P.E., van der Zouwen P., van den Bulk R. Development of specific primers for detection and identification of *Alternaria* spp. in carrot material by PCR and comparison with blotter and plating assays // *Mycol. Res.*, 2002, 106, 1, p. 23–33.

Kosiak B., Torp M., Skjerve E., Andersen B. *Alternaria* and *Fusarium* in Norwegian grains of reduced quality – a matched pair sample study // *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, 93, p. 51–62.

Kwaśna H., Kosiak B. *Lewia awenicola* sp. nov. and its *Alternaria* anamorph from oat grain, with key to the species of *Lewia* // *Mycol. Res.*, 2003, 107, 3, p. 371–376.

Lagopodi A.L., Thanassouloupoulos C.C. Effect of a leaf spot disease caused by *Alternaria alternata* on yield of sunflower in Greece // *Plant Dis.*, 1998, 82, 1, p. 41–44.

Larran S., Mónaco C., Alippi H.E. Endophytic fungi in leaves of *Lycopersicon esculentum* Mill // *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, 17, p. 181–184.

Larran S., Perelló A., Simón M.R., Moreno V. The endophytic fungi from wheat (*Triticum aestivum* L.) // *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, 23, p. 565–572.

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

Latin R., Rane K.K., Evans K.J. Effect of *Alternaria* leaf blight on soluble solids content of muskmelon // *Plant Dis.*, 1994, 78, p. 979–982.

Logrieco A., Bottalico A., Visconti A., Vurro M. Natural occurrence of *Alternaria* mycotoxins in some plants products // *Microbiologie, Aliments, Nutrition*, 1988, 6, p. 13–17.

Logrieco A., Bottalico A., Solfrizzo M., Müle G. Incidence of *Alternaria* species in grains from Mediterranean countries and their ability to produce mycotoxins // *Mycologia*, 1990a, 82, 4, p. 501–505.

Logrieco A., Visconti A., Bottalico A. Mandarin fruit rot caused by *Alternaria alternata* and associated mycotoxins // *Plant Dis.*, 1990b, 74, p. 415–417.

Logrieco A., Bottalico A., Mulé G., Moretti A., Perrone G. Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops // *Europ. J. Plant Pathol.*, 2003, 109, p. 645–667.

Lorenz K. Effects of blackpoint on grain composition and baking quality of New Zealand wheat // *New Zealand J. Agric. Res.* 1986, 29, p. 711–718.

Mak Y., Willows R.D., Roberts T.H., Wrigley C.W., Sharp P.J., Copeland L. Black Point is associated with reduced levels of stress, disease- and defence-related proteins in wheat grain // *Mol. Plant Pathol.*, 2006, 7, 3, p. 177–189.

Maude R.B., Humpherson-Jones F.M. Studies on the seed-borne phases of dark leaf spot (*Alternaria brassicicola*) and gray leaf spot (*Alternaria brassicae*) of brassicas // *Ann. Appl. Biol.*, 1980, 95, 3, p. 311–319.

Maude R.B., Moule C.G. Black rot of carrots // *Rep. Natl. Veg. Res. Stn.*, 1971, 22, p. 76.

McKay G.J., Brown A.E., Bjourson A.J., Mercer P.C. Molecular characterisation of *Alternaria linicola* and its detection in linseed // *Europ. J. Plant Pathol.*, 1999, 105, 1, p. 15–166.

Misaghi I.J., Grogan R.G., Duniway J.M., Kimble K.A. Influence of environment and culture media on spore morphology of *Alternaria alternata* // *Phytopathology*, 1978, 68, 1, p. 29–34.

Mislivec P.B., Bruce V.R., Stack M.E., Bandler R. Molds and tenuazonic acid in fresh tomatoes used for catsup production // *J. Food Prod.*, 1987, 50, p. 38–41.

Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high-molecular-weight plant DNA // *Nucl. Acid Res.*, 1980, 8, p. 4321–4325.

Neukirch C., Henry C., Leynaert B., Liard R., Bousquet J., Neukirch F. Is sensitization to *Alternaria alternata* a risk factor for severe asthma? A population-based study // *J. Allergy. Clin. Immunol.*, 1999, 103, 4, p. 709–711.

Nolla J.A.B. A new *Alternaria* disease of onions (*Allium cepa* L.) // *Phytopathology*, 1927, 17, p. 115–132.

Ondřej M. Seven little known species of the genus *Alternaria* // *Czech Mycol.*, 1996, 49, 2, p. 119–127.

Palmisano F., Zamboni P.G., Visconti A., Bottalico A. Determination of *Alternaria* mycotoxins in foodstuffs by gradient elution liquid chromatography with electrochemical detection // *Chromatographia*, 1989, 27, p. 425–430.

Peever T.L., Olsen L., Ibanez A., Timmer L.W. Genetic differentiation and host specificity among populations of *Alternaria* spp. causing brown spot of grapefruit and tangerine × grapefruit hybrids in Florida // *Phytopathology*, 2000, 90, p. 407–414.

Peever T.L., Ibañez A., Akimitsu K., Timmer L.W. Worldwide phylogeography of the citrus brown spot pathogen, *Alternaria alternata* // *Phytopathology*, 2002, 92, p. 794–802.

Peever T.L., Su G., Carpenter-Boggs L., Timmer L.W. Molecular systematics of citrus-associated *Alternaria* species // *Mycologia*, 2004, 96, p. 119–134.

- Peever, T.L., Carpenter-Boggs, L., Timmer, L.W., Carris, L.M. and Bhatia, A. 2005. Citrus black rot is caused by phylogenetically distinct lineages of *Alternaria alternata* // *Phytopathology*, 95, p. 512–518.
- Pryor B.M., Gilbertson R. L. A PCR-based assay for detection of *A. radicina* on carrot seed // *Plant Dis.*, 2001, 85, 1, p. 18–23.
- Pryor B.M., Michailides T.J. Morphological, pathogenic, and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of pistachio // *Phytopathology*, 2002, 92, 4, p. 406–416.
- Pryor B.M., Davis R.M., Gilbertson R.L. Detection and eradication of *Alternaria radicina* on carrot seed // *Plant Dis.*, 1994, 78, 5, p. 452–456.
- Pryor B.M., Strandberg J.O., Davis R.M., Nunez J.J., Gilbertson R.L. Survival and persistence of *Alternaria dauci* in carrot cropping system // *Plant Dis.*, 2002, 86, 10, p. 1115–1122.
- Raeder U., Broda P. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi // *Lett. Appl. Microbiol.*, 1985, 1, p. 17–20.
- Robertshaw H., Higgins E. Cutaneous infection with *Alternaria tenuissima* in an immunocompromised patient // *British J. Dermatol.*, 2005, 153, 5, p. 1047–1049.
- Rodrigues T.T.M.S., Berbee M.L., Simmons E.G., Cardoso C.R., Reis A., Maffia L.A., Mizubuti E.S.G. First report of *Alternaria tomatophila* and *A. grandis* causing early blight on tomato and potato in Brazil // *New Dis. Reports*, 2010, 22, p. 28.
- Rotem J. The genus *Alternaria*. St.Paul, 1994, 326 p.
- Sambrook J., Russell D.W. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd edition. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O. *Introduction to food- and airborne fungi*. 6 edition. Utrecht: CBS, 2000, 389 p.
- Scott P.M., Lawrence G.A., Lau B. P.-Y. Analysis of wines, grape juices and cranberry juices for *Alternaria* toxins // *Mycotox. Res.*, 2006, 22, 2, p. 142–147.
- Serdani M., Kang J.-C., Andersen B., Crous P.W. Characterisation of *Alternaria* species-groups associated with core rot of apples in South Africa // *Mycol. Res.*, 2002, 106, 5, p. 561–569.
- Simmons E.G. *Alternaria* themes and variations (17-21) // *Mycotaxon*, 1986, 25, 1, p. 203–216.
- Simmons E.G. *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challenge // *Alternaria. Biology, plant diseases and metabolites* / Eds. J. Chekowski, A. Visconti. Amsterdam: Elsevier, 1992, p. 1–36.
- Simmons E. G. *Alternaria* themes and variations (106–111) // *Mycotaxon*, 1994, 50, p. 409–427.
- Simmons E.G. *Alternaria. An Identification Manual*. Utrecht: CBS, 2007, 775 p.
- Southwell R.J., Brown J.F., Wong P.T.W. Effect of inoculum density, stage of plant growth and dew period on the incidence of black point caused by *Alternaria alternata* in durum wheat // *Ann. Appl. Biol.*, 1980, 96, 1, p. 29–35.

Stack M.E., Prival M.J. Mutagenicity of the *Alternaria* Metabolites Alternotoxins I, II, and III // *Appl. Environm. Microbiol.*, 1986, 52, 4, p. 718–722.

Stinson E.E., Osman S.F., Heisler E.G., Siciliaro J., Bills O.O. Mycotoxin production in whole tomatoes, apples, oranges and lemons // *J. Agric.Food Chemistry*, 1981, 29, p. 790–792.

Su X.J., Yu H., Zhou T., Li, X.-Z., Gong J., Chu C. L. First Report of *Alternaria raphani* Causing Black Patches on Chinese Radish During Postharvest Storage in Canada // *Plant Dis.*, 2005, 89, 9, p. 1015.

Sulman M., Fox G., Williamson P., Michalowicz M., Inkerman P., Osman A. Potential of isoelectric focusing as a screening technique for resistance to black point in barley // *Proc. 9th Austral. Barley Technical Symp.*, 1999, <http://www.regional.org.au/au/abts/1999/sulman.htm>.

Torres A., Chulze S., Varsavasky E., Rodriguez M. *Alternaria* metabolites in sunflower seeds. Incidence and effect of pesticides on their production // *Mycopathologia*, 1993, 121, p. 17–20.

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

Visconti A., Sibilina A. *Alternaria* toxins. In: *Mycotoxins in grains, compounds other than aflatoxins* / Eds J. D. Miller, H. L. Trenholm. St. Paul: Eagan Press, 1994, p. 315–336.

Webley D. J., Jackson K. L. Mycotoxins in cereals – a comparison between North America, Europe and Australia // *Austral. Postharvest Technical Conf.*, 1998, p. 63–66.

Williamson P. Black point of wheat: in vitro symptoms, enzymes involved and association with *Alternaria alternata* // *Austral. J. Agric. Res.*, 1997, 48, p. 13–19.

Yekeler H., Bitmis K., Ozcelik N., Doymaz M.Z., Calta M. Analysis of toxic effects of *Alternaria* toxins on esophagus of mice by light and electron microscopy // *Toxicol. Pathol.*, 2001, 29, p. 492–497.

Yu S.H. Korean species of *Alternaria* and *Stemphylium*. Suwon: National Institute of Agricultural Science and Technology, 2001, 212 p.

Указатель видов и родов грибов

Alternaria

<i>A. alliariae-officinalis</i>	36
<i>A. alternata</i>	8, 14, 15, 16, 23, 26, 29, 31
' <i>A. alternata</i> ', комплекс видов	15, 18, 21, 26, 28, 29, 31
<i>A. americana</i>	49
<i>A. arborescens</i>	6, 28, 31, 33
<i>A. avenicola</i>	20, 35
<i>A. brassicae</i>	6, 9, 16, 20, 26, 27, 29, 36, 37, 38
<i>A. brassicae</i> var. <i>dauci</i>	42
<i>A. brassicae</i> var. <i>exitiosa</i>	36
<i>A. brassicae</i> var. <i>macrospora</i>	36
<i>A. brassicae</i> var. <i>minor</i>	38
<i>A. brassicicola</i>	6, 38,
<i>A. calendulae</i>	29, 39
<i>A. carotae</i>	42
<i>A. circinans</i>	38
<i>A. cucumerina</i>	30, 40
<i>A. dauci</i>	6, 9, 20, 22, 26, 30, 42, 43, 47
<i>A. dauci</i> f. <i>sp. solani</i>	49
<i>A. exitiosa</i>	36
<i>A. helianthi</i>	53
<i>A. helianthiinficiens</i>	6, 29, 43, 44
<i>A. herculea</i>	36
<i>A. infectoria</i>	15, 32, 35
' <i>A. infectoria</i> ', комплекс видов	5, 15, 18, 21, 24, 26, 28, 31, 32, 34
<i>A. japonica</i>	6, 26, 29, 45
<i>A. linicola</i>	26
<i>A. longipes</i>	23
<i>A. macrospora</i>	36
<i>A. mattioli</i>	45
<i>A. oleracea</i>	38
<i>A. porri</i>	6, 9, 20, 22, 30, 46, 47
<i>A. porri</i> f. <i>sp. solani</i>	49
<i>A. porri</i> f. <i>sp. dauci</i>	42
<i>A. radicina</i>	6, 9, 16, 26, 30, 42, 46, 47, 48
<i>A. raphani</i>	45
<i>A. saccardoii</i>	36
<i>A. solani</i>	6, 22, 48, 49, 50
<i>A. tenuis</i>	8, 31
<i>A. tenuissima</i>	5, 6, 13, 15, 16, 23, 28, 31, 34
<i>A. tomatophila</i>	22, 29, 50, 51

<i>A. triticina</i>	32
<i>A. zinniae</i>	30, 52
<i>Alternariaster</i>	
<i>Alternariaster</i>	14
<i>A. helianthi</i>	44, 53, 54
<i>Brachycladium</i>	
<i>Brachycladium</i>	14
<i>Cercospora</i>	
<i>C. bloxami</i>	36
<i>C. carotae</i>	9
<i>C. lepidii</i>	36
<i>C. moldavica</i>	36
<i>Chalastospora</i>	
<i>Chalastospora</i>	14
<i>Cochliobolus</i>	
<i>C. sativus</i>	5
<i>Embellisia</i>	
<i>Embellisia</i>	14
<i>E. helianthi</i>	53
<i>Helminthosporium</i>	
<i>H. brassicae</i>	38
<i>H. brassicicola</i>	38
<i>H. helianthi</i>	53
<i>Lewia</i>	
<i>Lewia</i>	14, 32
<i>L. avenicola</i>	35
<i>Macrosporium</i>	
<i>M. brassicae</i>	36
<i>M. brassicae</i> var. <i>macrospora</i>	36
<i>M. calendulae</i>	39
<i>M. carotae</i>	42
<i>M. cheiranthi</i> var. <i>circinans</i>	38
<i>M. circinans</i>	38
<i>M. commune</i> var. <i>circinans</i>	38
<i>M. cucumerinum</i>	40
<i>M. dauci</i>	42
<i>M. daucinum</i>	46
<i>M. herculeum</i>	36
<i>M. macrosporum</i>	36
<i>M. porri</i>	46
<i>M. solani</i>	48
<i>Nimbya</i>	

<i>Nimbya</i>	14
<i>Polydesmus</i>	
<i>P. exitiosus</i>	36
<i>P. exitiosus</i> f. <i>alternarioides</i>	38
<i>P. exitiosus</i> f. <i>luxuriosum</i>	38
<i>P. exitiosus</i> var. <i>dauci</i>	42
<i>Prathoda</i>	
<i>Prathoda</i>	14
<i>Pseudostemphylium</i>	
<i>P. radicinum</i>	46
<i>Puccinia</i>	
<i>P. brassicae</i>	36
<i>Rhopalidium</i>	
<i>R. brassicae</i>	36
<i>Sporidesmium</i>	
<i>S. exitiosum</i>	36
<i>S. exitiosum</i> f. <i>alternarioides</i>	38
<i>S. exitiosum</i> f. <i>luxuriosum</i>	38
<i>S. exitiosum</i> var. <i>dauci</i>	42
<i>S. solanivarians</i>	48
<i>S. brassicae</i>	36
<i>S. onnii</i>	36
<i>Stemphylium</i>	
<i>Stemphylium</i>	8
<i>S. radicinum</i>	46
<i>Teretispora</i>	
<i>Teretispora</i>	14
<i>Thyrospora</i>	
<i>T. radicina</i>	46
<i>Ulocladium</i>	
<i>Ulocladium</i>	14
<i>Undifilum</i>	
<i>Undifilum</i>	14

Ганнибал Ф.Б. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*. Методическое пособие. Под ред. М.М.Левитина. СПб.: ГНУ ВИЗР Россельхозакадемии, 2011. 70 с.

Gannibal Ph.B. Monitoring of alternarioses of crops and identification of fungi of the genus *Alternaria*. A manual. Ed. M.M.Levitin. VIZR, St. Petersburg. 2011. 70 p.

Научное издание. RIZO-печать
ИННОВАЦИОННЫЙ ЦЕНТР ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ
Лицензия ПЛД № 69-253. Подписано к печати 26 сентября 2011 г.